

Pro gradu -tutkielma
Fysiikka

Perunatärkkelyksen rakenne

Teemu Ikonen

2002

Ohjaaja: dos. Ritva Serimaa
Tarkastajat: prof. Pekka Suortti
dos. Ritva Serimaa

HELSINGIN YLIOPISTO
FYSIKAALISTEN TIETEIDEN LAITOS
PL 64 (Gustaf Hällströmin katu 2)
FIN-00014 Helsingin yliopisto

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty		Laitos — Institution — Department	
Matemaattis-luonnontieteellinen		Fysikaalisten tieteiden laitos	
Tekijä — Författare — Author			
Teemu Ikonen			
Työn nimi — Arbetets titel — Title			
Perunatärkkelyksen rakenne			
Oppiaine — Läroämne — Subject			
Fysiikka			
Työn laji — Arbetets art — Level		Aika — Datum — Month and year	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages
Pro gradu -tutkielma		Toukokuu 2002	68
Tiivistelmä — Referat — Abstract			
<p>Perunatärkkelys on eräs tärkeimmistä biopolymeereistä. Se on suurimpia hiilihydraattilähteitä ihmisten ja tuotantoeläinten ruokavaliossa ja soveltuu myös muuhun kuin ravinnoksi, esimerkiksi pinnoitteeksi. Perunan tärkkelystä sisältävä osa, mukula, on kasvin keino varastoida energiaa talven yli. Talven aikana tärkkelyksessä tapahtuvat muutokset voivat vaikuttaa sen ominaisuuksiin ravintona ja teollisuuden raaka-aineena. Tärkkelyksen ominaisuuksia voidaan muuttaa myös uudenaikaisilla kasvinjalostusmenetelmillä. Kasvin perimää muuttamalla saadaan aikaan rakenteeltaan erilaista tärkkelystä. Kummassakin tapauksessa tarvitaan menetelmiä, joilla mukulan sisältämän tärkkelyksen rakennetta voidaan tutkia määrällisesti.</p> <p>Tässä työssä on tutkittu soveltuvanko röntgensäteilyn elastiseen sirontaan perustuvat menetelmät mukulan sisältämän tärkkelyksen rakenteen mittaamiseen talvehtimiskauden aikana. Näytteinä olivat kolmen suomalaisen viljelylajikkeen (Satu, Saturna ja Lady Rosetta) mukuloista leikatut siivut ja useammasta saman lajikkeen mukulasta sekoitetut soseet. Näytteitä pyrittiin käsittelemään mahdollisimman vähän. Mittauksia suoritettiin elokuussa korjatuista mukuloista kuukausittain aina seuraavan vuoden kesäkuuhun asti. Mittauslaitteistoina käytettiin Helsingin yliopiston fysiikan laitoksen röntgenfysiikan laboratorion diffraktometriä ja pienkulmasirontalaitteistoa. Lisäksi tehtiin yksittäisiä mittauksia erittäin pienillä sirontakulmilla Hamburger Synchrotronstrahlungslaborin (HASYLAB) sädelinjalla BW4. Tulosten käsittely perustui tärkkelyksen tunnetun rakenteen pohjalta tehtyihin malleihin. Malleista johdettujen rakenneparametrien arvot määritettiin jokaiselle mitatulle näytteelle erikseen.</p> <p>Tulosten perusteella perunatärkkelyksen rakenne pysyy melko tarkasti vakiona talvehtimiskauden ajan syyskuusta helmikuuhun, vaikka eri yksilöiden välinen vaihtelu onkin suuri. Maaliskuun jälkeen näytteissä havaittiin muutos. Kiteisen tärkkelyksen hilavakiot muuttuivat ja sen osuus tärkkelyksen kokonaismäärästä kasvoi. Käytettyjen menetelmien todettiin soveltuvan seurantatyypiseen tutkimukseen.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords			
Peruna, tärkkelys, röntgensironta			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited			
Kumpulan tiedekirjasto			
Muita tietoja — övriga uppgifter — Additional information			

Sisältö

1	Johdanto	1
2	Perunatärkkelyksen rakenne	3
2.1	Kemiallinen koostumus ja kiderakenne	3
2.2	Tärkkelysrakeet	5
2.3	Nanometriluokan rakenne	5
2.4	Amorfinen tärkkelys	8
3	Röntgensäteily rakennetutkimuksessa	9
3.1	Elastinen sironta	9
3.2	Kinemaattinen diffraktioteoria	12
3.3	Sironta heikosti järjestyneestä aineesta	14
3.3.1	Yleistä	14
3.3.2	Pienkulmasironta	15
3.3.3	Fraktaaliset rakenteet	16
3.4	Sironta kiteisestä aineesta	18
3.4.1	Hila ja käänneishila	18
3.4.2	Jauhediffraktio	20
3.5	Röntgendiffraktioon perustuvia analyysimenetelmiä	22
3.5.1	Heijastuksen muotoanalyysi	22
3.5.2	Faasiosuuksien määrittäminen	24
4	Mittalaitteet ja mittaukset	26
4.1	Diffraktio (WAXS)	26
4.1.1	Laitteisto	26
4.1.2	Laitteistokorjaukset	26
4.1.3	Mittaukset	29
4.2	Pienkulmasironta (SAXS)	29
4.2.1	Laitteisto	29
4.2.2	Mittaukset ja laitteistokorjaukset	30
4.3	Sädelinja BW4	32
4.3.1	Laitteisto	32

4.3.2	Mittaukset	33
5	Data-analyysi	36
5.1	Perusteet	36
5.1.1	Todennäköisyydestä	36
5.1.2	Mallintaminen	38
5.1.3	Virheanalyysi	41
5.2	Käytetyt mallit ja parametrit	44
5.2.1	Laajakulmasironta	44
5.2.2	Pienkulmasironta	47
5.2.3	USAXS	48
6	Tulokset	50
6.1	Diffraktiomittaukset	50
6.2	Pienkulmasirontamittaukset	51
6.3	USAXS-mittaukset	57
7	Johtopäätökset	63

Luku 1

Johdanto

I love deadlines. I love the whooshing sound they make as they fly by.

Douglas Adams

Peruna (*Solanum tuberosum* L.) kuuluu tärkeimpien tuotantokasvien joukkoon sekä Suomessa että muualla maailmassa. Tämä Andien vuoristosta lähtöisin oleva kasvi tuotiin Eurooppaan 1600-luvulla, ja sen ominaisuuksia on pyritty jalostamaan siitä lähtien. Menetelminä ovat olleet perinteinen risteytys ja ominaisuuksiltaan parhaiden yksilöiden valikoiminen käsin. Viime vuosikymmeninä on biotekniikan kehitys mahdollistanut kasvien perimän suoran muuttamisen ja siten uusien piirteiden nopean tuottamisen kasvin fenotyyppiin.

Kasvinjalostuksessa on perinteisesti pidetty tärkeinä ominaisuuksina suurta satoisuutta, tuholaisten ja tautien kestävyyttä ja soveltuvuutta kasvupaikan ilmastoon. Mikään ei periaatteessa estä vieläkin tarkempaa tuotantokasvin räätelöintiä. Kasvista peräisin olevien tuotteiden rakennetta pystytään muuttamaan mikroskooppisella tasolla, jos ymmärretään niiden syntymekanismi kasvin aineenvaihdunnassa.

Perunassa kiinnostavaa on pääasiassa sen mukulan sisältämä tärkkelys. Tärkkelys on hiilihydraatti, joka soveltuu mainiosti ihmisravinnoksi tai rehuksi. Tärkkelyksen nanometriluokan rakenne vaikuttaa paitsi sen metaboloitumiseen ravinnon nauttijan elimistössä, mutta myös sen prosessointiominaisuuksiin valmistettaessa erilaisia perunatärkkelykseen perustuvia tuotteita, olivat ne sitten tarkoitettu ravinnoksi tai eivät. Perunasta valmistettuja tuotteita ovat erilaiset prosessoidut ruoat, ranskalaiset perunat, perunalastut ja perunasoseet. Teollisuudessa käytetään tärkkelystä myös pinnoitteena, esimerkiksi paperin valmistuksessa.

Tehokas jalostaminen edellyttää ymmärrystä eliön perimän ja ilmiänsun välisestä yhteydestä. Perunan perimää sopivasti muutettaessa aiheutuu tärkkelyssynteesin reaktioketjuun muutoksia, jotka havaitaan tärkkelyksen raken-

teessa. Toisin kuin kasvin makroskooppiseen ulkoasuun liittyvät muutokset, nämä eivät ole paljain silmin havaittavissa.

Tärkkelysrakenne vaihtelee myös elävässä kasvissa. Mukula toimii perunakasvissa paitsi energiavarastona, myös suvuttoman lisääntymisen välineenä. Sopivissa olosuhteissa mukula alkaa käyttää tärkkelykseen varastoitunutta energiaa jälleen kasvamiseen, peruna itää. Viljelijälle ja kasville itäminen on luonnollisesti hyödyllinen ja toivottava ilmiö, perunaa ravinnokseen ja muihin tuotteisiin käyttävälle siitä on haittaa. Suomessa perunan itäminen alkaa vasta pitkän, talven yli kestävän lepokauden jälkeen. Perunasatoja saadaan vain yksi vuodessa, joten on perunatärkkelyksen käytön kannalta hyödyllistä tietää, miten tärkkelys muuttuu varastoinnin aikana.

Tässä työssä on pyritty selvittämään, soveltuvatko röntgensäteilyn sirontaan perustuvat menetelmät perunamukulan sisältämän tärkkelyksen rakenteen tutkimukseen. Tarkasteltavien rakenteiden mittakaava on nanometrien luokkaa, ja tutkitut näytteet vaihtelivat sekä lajikkeeltaan että varastointiin käytetyn ajan suhteen. Syksystä seuraavan vuoden kesään kestäneen varastointikauden kuluessa tehtiin mittauksia kolmesta suomalaisesta tuotantolajikkeesta Satu, Lady Rosetta ja Saturna.

Useimmista tärkkelyksen rakennetta käsittelevistä tutkimuksista poiketen näytteitä pyrittiin käsittelemään mahdollisimman vähän. Mittaukset tehtiin joko perunamukulasta hetkeä aikaisemmin leikatuille siivuilla tai muutamasta saman lajikkeen yksilöstä sekoitetulle soseelle. Käsittelyn vaikutus rakenteeseen jäi näin mahdollisimman vähäiseksi.

Luku 2

Perunatärkkelyksen rakenne

Mashed potatoes (Purée de pommes de terre). Peel some large waxy potatoes. Cut into quarters and place in a saucepan of cold salted water. Bring to the boil and leave to cook until they begin to disintegrate, then drain thoroughly. Reduce the potatoes to a pulp in a vegetable mill. Pour the mash into a saucepan and add 75 g butter per 750 g potato. Stir thoroughly over a gentle heat, then add some boiling milk, beating the mash with a wooden spoon until it has a good smooth consistency. Adjust the seasoning.

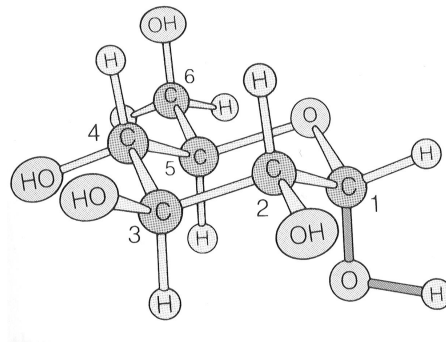
Larousse gastronomique

2.1 Kemiallinen koostumus ja kiderakenne

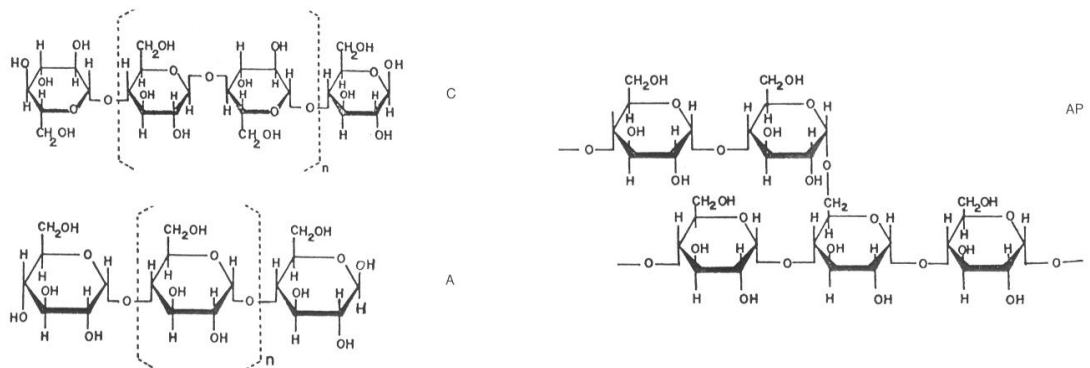
Tärkkelys on glukoosiyksiköistä rakentunut polymeeri, polysakkaridi. Glukoosi (kuva 2.1) on rakenteeltaan rengasmainen hapen sisältävä hiilivety. Tärkkelyspolymeerissä glukoosiyksiköt ovat liittyneet toisiinsa ensimmäiseen ja neljänteen hiiliatomiin kovalenttisesti sitoutuneen happiatomin välityksellä. Merkittävää on, että kaksi luonnon tärkeää polymeeria, tärkkelys ja selluloosa, eroavat toisistaan vain tämän sidoksen suunnan suhteen (kuva 2.2). Tärkkelyksessä happiatomi sitoo kaksi glukoosia renkaiden samalta puolelta. Tämä on ns. α -järjestys, jolloin toistuva yksikkö on yksi glukoosirengas. Selluloosassa sidos on kahden glukoosirenkaan vastakkaisilla puolilla (β -järjestys), toistuva yksikkö on kaksi glukoosirengasta.

Tärkkelyksestä voidaan kemiallisella tasolla edelleen erottaa kaksi erilaista variaatiota, lineaarinen $\alpha(1, 4)$ -sidoksella kytketty amyloosi ja haaroittunut amylopektiini, jossa haarautumispisteissä sidos on muodostunut hiiliatomien 1 ja 6 välille ($\alpha(1, 6)$ -sidos).

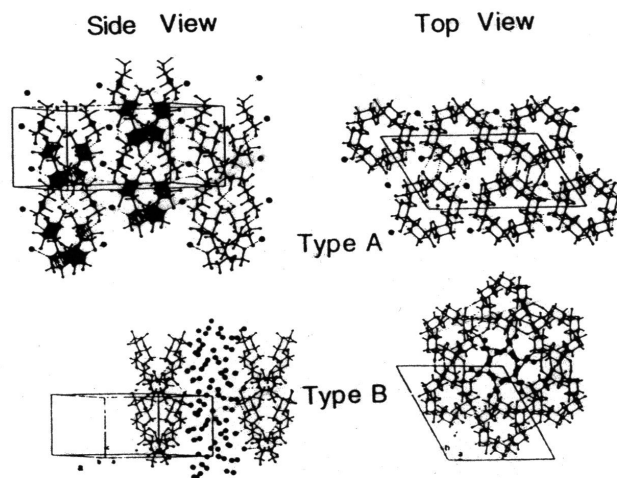
Kiteisen tärkkelyksen rakenne on selvitetty atomitasolla käyttäen pääasiasa kuitudiffraktiomenetelmiä [1]. Tärkkelyksen kiteytyessä kaksi glukoosiket-



Kuva 2.1: Glukoosimolekyylin rakenne.



Kuva 2.2: Selluloosan (C), amyloosin (A) ja amylopektiinin (AP) kemialliset rakenteet.



Kuva 2.3: A- ja B-tyypin tärkkelyksen kiderakenteet.

jua kietoutuu toistensa ympäri muodostaen kaksoiskierteen. On helppo ajatella, että tällainen kierre muodostuu helposti juuri amylopektiinin haarautumiskohtaan. Perunassa kiteiset tärkkelysrakenteet koostuvatkin pääasiassa amylopektiinistä ja amorfiset rakenteet amyloosista.

Kiteistä tärkkelystä esiintyy kahdessa eri muodossa, joiden ero on kaksoiskierteiden erilainen sijoittuminen 2-ulotteiseen hilaan (kuva 2.3). A-tyyppin tärkkelystä tavataan lähinnä viljakasveissa [2], ja sen kiderakenne on monokliininen [3]. B-tyyppin tärkkelystä esiintyy mukuloissa, kuten perunassa, ja sen kiderakenne on heksagonaalinen. Lisäksi kirjallisuudessa esiintyy C-tyyppin tärkkelys, jonka myöhemmät tutkimukset ovat osoittaneet olevan A- ja B-tyyppin tärkkelysten sekoitus. [4].

Vedellä on tärkkelyksen luonnossa esiintyvässä rakenteessa suuri merkitys. B-tyyppin kiderakenteessa esiintyvässä kanavassa vesimolekyylit ovat sitoutuneet glukoosiyksiköihin vetysidoksella, eivätkä pääse liikkumaan (kuva 2.3B). Amorfisessa tärkkelyksessä vesi muodostaa myös vetysidoksia glukoosiketjujen välille toimien eräänlaisena voiteluaineena, joka vähentää rakenteen viskositeettia [5].

2.2 Tärkkelysrakeet

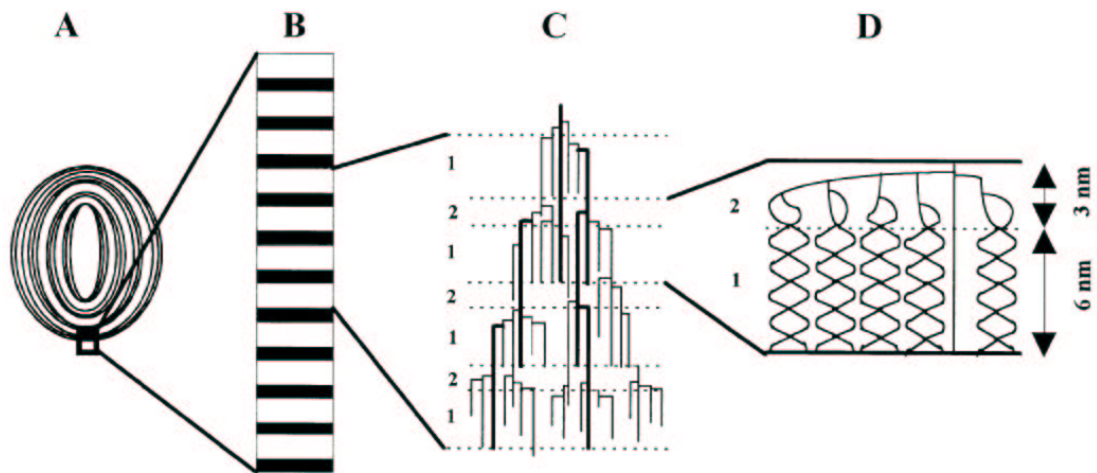
Mikrometriluokan mittakaavassa tärkkelyksen havaitaan muodostavan ellipsoidin muotoisia rakeita. Rakeiden halkaisija riippuu kasvilajista, mutta vaihtelee välillä 10 - 100 μm .

Rakeen biosynteesi kasvilla on monimutkainen ja varsin huonosti ymmärretty prosessi, johon osallistuu useita entsyymejä [6, 7]. Kaiken perustana on sukroosia ADP-glukoosiksi ja sitä kautta tärkkelykseksi muuttava reaktioketju, mutta tärkkelyssynteesiin kuuluu myös glukoosiketjua haaroittavia ja haaraantumia katkovia entsyymejä, joiden yhteinen toiminta tuottaa lopullisen rakenteen.

Tärkkelysrae kasvaa kerroksittain keskipisteen (hilum) ympärille. Kasvukerroksissa kiteistä tärkkelystä sisältävät kerrokset vuorottelevat amorfisten kerrosten kanssa (kuva 2.4A). Kasvurenkaiden paksuus vaihtelee välillä 120 - 400 nm [8] ja ohenee rakeen reunaa lähestyttäessä. Tämän perusteella rakeen massan kasvunopeuden voi päätellä olevan vakio.

2.3 Nanometriluokan rakenne

Kiteisen tärkkelyksen järjestäytymisestä kiteisten ja amorfisten ketjujen muodostamien atomaaristen rakenteiden ja tärkkelysrakeen lähes makroskooppis-



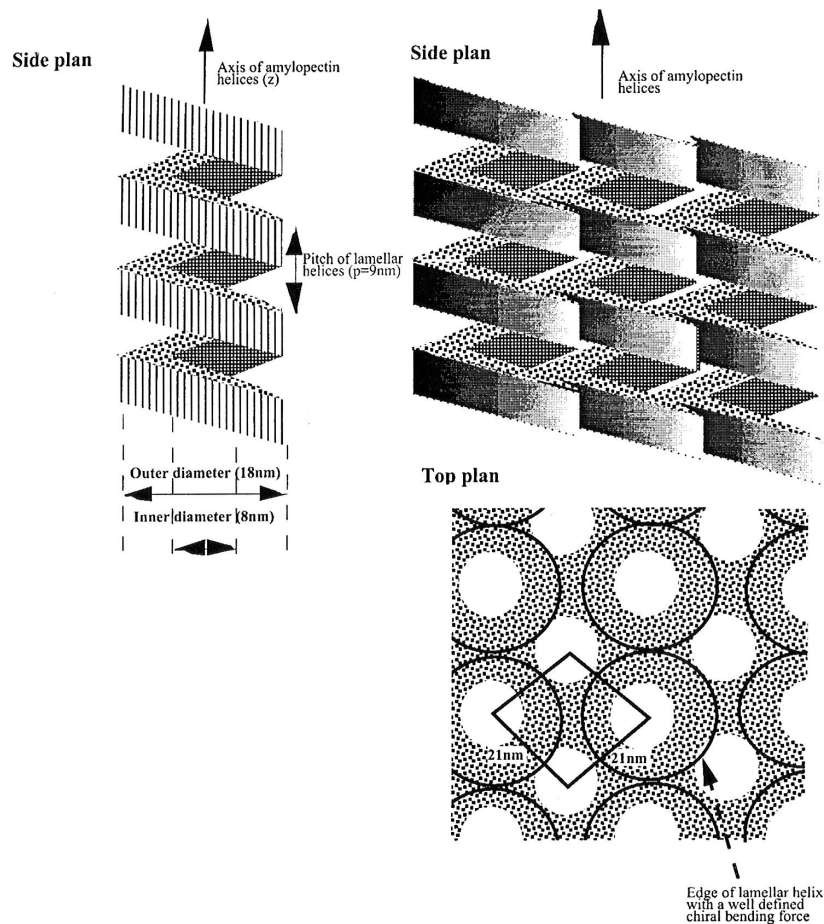
Kuva 2.4: Tärkkelysrakeen koostumus. Ellipsoidaalinen tärkkelysrae (A) koostuu amorfisista ja kiteisistä kasvurenkaista. Kiteisessä renkaassa (B) amorfisen ja kiteisen tärkkelyksen vuorottelu jatkuu pienemmässä mittakaavassa lamellirakenteena. Lamellit (C) muodustuvat haaroittuneen amylopektiiniketjun kiteisistä sivuketjuista ja amorfisista haarautumiskohdista. Yksittäinen kaksoiskierteisistä glukoosiketjuista koostuva sivuketjurypäs (D). Kuva on viitteestä [6].

ten kasvurenkaiden väliin jäävällä nanometriskaalan alueella ei kirjallisuudessa vallitse vielä yksimielisyyttä. Eniten kannatusta on viime aikoina saanut malli, jossa amylopektiinin sivuketjujen muodostamat kiteiset ryppäät järjestyvät edelleen suuremman kokoluokan kierteiseksi rakenteeksi (eng. superhelix).

Tärkkelysrakeen kiteisten kerrosten selkein piirre on 9 nm:n jaksolla toistuva lamellaarinen rakenne. Yleisesti hyväksytty käsitys on, että tämä jakso syntyy kiteisten ja amorfisten alueiden vuorottelusta (kuva 2.4B). Lamellien kiteiset osat eivät ole jatkuvia myöskään lamellin suunnassa, vaan ne ovat jakautuneet alueisiin, joiden läpimitta on lamellietäisyyden luokkaa (10 nm) [8].

Amorfisten ja kiteisten alueiden vuorottelu selittyy luonnollisesti amylopektiinin sivuketjurypäs-mallissa (eng. amylopectin side-chain cluster). Tässä mallissa amorfiset alueet koostuvat runsaasti α -(1-6)-haarautumiskohtia sisältävästä amylopektiinistä ja amorfisesta pääketjusta haarautuneet sivuketjut kiertyvät kaksoiskierteiksi muodostaen kiteisiä alueita. Kaksoiskierteiden akselin on voitu osoittaa olevan tärkkelysrakeen pinnan normaalin suuntainen [4].

Kirjallisuudessa on esitetty atomivoima- ja elektronimikroskopiaalla tehtyjä havaintoja 10-100 nm kokoisista rakenteista tärkkelysrakeessa ja sen pin-



Kuva 2.5: Superhelix-malli amylopektiinin nanometriluokan rakenteelle tärkkelysrakeessa. Kiteisten lamellien ja kierteiden välissä olevaa amorfista tärkkelystä ei ole piirretty. Kuva viitteestä [9].

nalla [10]. Havaintojen perusteella on esitetty tärkkelyksen nanometriluokan rakenteeksi ns. bloklettia, ellipsoidin muotoista 20-500 nm kokoista aluetta, joka sisältää pinon kiteisiä lamelleja [8].

Superhelix-malli [11, 6] antaa edelleen yksityiskohtaisemman kuvan lamellirakenteesta. Siinä pääketju ja sivuketjurypäävät muodostavat kierteen, jonka nousu on 9 nm:n lamellietäisyys (kuva 2.5). Suuri kierre on mallin mukaan vasenkätinen, kuten kiderakenteen kierrekin. Tämän rakenteen selitykseksi annetaan tiukasti vierekkäin pakattujen kiteisten kierteiden kokemat vääntövoimat [12]. Superhelix-malli vaikuttaa yksinkertaisimmalta selitykseltä muutamille elektronimikroskopialla ja mikrofokusoidun röntgensäteilyn pienkulmasironnalla tärkkelysrakeesta tehdyille havainnoille. Erityisesti tärkkelysrakeen orientoituneesta reunasta havaittu lamellin 9 nm:n diffraktiopiikin hajoaminen tyypilliseksi kierrarakenteessa havaituksi ristikuvioksi (tosin vain 1.

kertaluokan heijastus voidaan havaita) [9] on vahva todiste mallin puolesta.

2.4 Amorfinen tärkkelys

Kiteinen tärkkelys edustaa vain noin 15 - 45% osuutta rakeen tärkkelyksestä [13], loppuosa glukoosipolymeeriketjuista on järjestynyt amorfiseksi, lasimaiseksi rakenteeksi. Molekyylidynamiikkamenetelmillä on pystytty laskemaan jakaumia glukoosiyksiköiden välisten sidosten kiertokulmille ja arvioita eri polymeeriketjujen välisille (lähinnä vety-) sidoksille [14, 5]. Kokeellinen informaatio rajoittuu röntgensironnan antamiin radiaalisiin elektronitiheysfunktioihin ja NMR-mittauksista saatavaan lyhyen kantaman rakenteeseen, joka osoittaa kaksoiskierteistä rakennetta löytyvän myös amorfisista alueista[8]. Oleellisesti satunnaisesta amorfisesta aineesta tuskin voidaan saadaakaan tämän enempää rakenteellista informaatiota.

Yksi tapa tarkastella amorfisesta perunatärkkelyksestä saatuja valon- ja röntgensäteilyn pienkulmasironnan intensiteettejä on käsitellä näytettä fraktaalina [15]. Tarkemmin tätä aihetta käsitellään luvussa 3.

Luku 3

Röntgensäteily rakennetutkimuksessa

A child of five could understand this. Fetch me a child of five.
Groucho Marx

3.1 Elastinen sironta

Sähkömagneettista säteilyä aallonpituusalueella 100 - 0.1 Å kutsutaan röntgensäteilyksi löytäjänsä Wilhelm Konrad Röntgenin (1845-1923) mukaan. Lääketieteellisten sovellusten lisäksi röntgensäteily on osoittanut hyödyllisyytensä materiaalitutkimuksessa. Atomien koko (1 Å) ja röntgensäteilyn aallonpituus ovat samaa luokkaa, mikä mahdollistaa aineen rakenteen tutkimisen kemian ja aineen arkipäiväisten ominaisuuksien kannalta perustavanlaatuisessa kokoluokassa.

Röntgensäteilyn ja atomien (pääasiassa atomin elektronien) eri vuorovaikutusmuotoja voidaan käyttää monella tavalla aineen ominaisuuksien tutkimukseen. Aineen atomien järjestymistä tutkittaessa on kuitenkin elastinen sironta ylivoimaisesti tärkein. Elastinen sironta, jota kutsutaan myös Rayleighin tai Thomsonin sironnaksi, on prosessi, jossa fotonin energia säilyy. Sen tekee hyödylliseksi rakenteen tutkimuksessa sironnan koherenssi. Muut fotonin lähettävät fotoni-elektroni -prosessit (Compton-sironta, fluoresenssi, resonantti sironta) ovat epäkoherentteja. Näytteeseen tulevalle ja siitä sironneelle fotonilla ei ole määrättyä vaiherelaatiota. Koherentin sironnan havaitsemiseen perustuvissa menetelmissä muut sirontaprosessit (lähinnä Compton-sironta) ovat vain haitaksi, sillä ne aiheuttavat mittaukseen ylimääräistä taustaa.

Tarkastellaan seuraavaksi lyhyesti sähkömagneettista säteilyä ja elastista sirontaa klassisen fysiikan antamia malleja käyttäen.

Sähkömagneettiseen tasoaaltoon voidaan liittää ortonormaali koordinaa-

tisto $\hat{e}_1, \hat{e}_2, \hat{e}_3$, missä aalloon etenemissuunta $\hat{n} = \mathbf{k}/k$ kiinnittää yhden suunnan, vaikkapa $\hat{e}_3 \cdot \hat{n}$. Jäljellä olevat kaksi vektoria määrittelevät tason, jolle etenemissuunta on normaali. Maxwellin yhtälöistä lähtien voidaan osoittaa [16], että tyhjiössä sähkömagneettisen säteilyn sähkö- ja magneettikentän vektorit ovat aina etenemissuuntaa vastaan kohtisuorassa. Maxwellin yhtälöistä seuraa myös, että magneettikentän vektori on sähkökentän vektoria vastaan kohtisuorassa siten, että \mathbf{E}, \mathbf{B} ja \mathbf{k} muodostavat oikeakätisen suorakulmaisen koordinaatiston. Säteilyn polarisaatiosuunta on määritelty yhteneväksi sähkökentän suunnan kanssa.

Monokromaattisen aallon polarisaatiotilan yleisin esitysmuoto on kahden lineaarisesti polarisoituneen, saman aaltovektorin omaavan tasoaallon summa, jossa vaaditaan, että aaltojen polarisaatiovektorit virittävät polarisaatiotason. Yksinkertaisinta on valita polarisaatiotason kannaksi ortogonaaliset vektorit \hat{e}_1 ja \hat{e}_2 , jolloin monokromaattista aaltoa esittää yhtälö

$$\mathbf{E} = (A_1 \hat{e}_1 + A_2 \hat{e}_2) e^{i(\mathbf{k} \cdot \mathbf{x} - \omega t)} = \boldsymbol{\varepsilon} e^{i(\mathbf{k} \cdot \mathbf{x} - \omega t)}, \quad (3.1)$$

missä A_1 ja A_2 ovat kompleksilukuja, jotka sisältävät sekä vaihe- että amplitudiinformaation. Merkintää on edelleen yksinkertaistettu ottamalla käyttöön kompleksinen polarisaatiovektori $\boldsymbol{\varepsilon} = A_1 \hat{e}_1 + A_2 \hat{e}_2$, jonka neljä komponenttia määrittävät monokromaattisen tasoaallon amplitudin, polarisaation ja vaiheen täydellisesti. Tavalliseen tapaan fysikaaliset suureet, kuten sähkökenttävektori tietyllä hetkellä tietyssä paikassa saadaan ottamalla vastaavan kompleksisen suureen reaaliosa. On helppo nähdä, että polarisaatiovektorin pistetulo itsensä kanssa on verrannollinen säteilyn intensiteettiin, $\boldsymbol{\varepsilon}^* \cdot \boldsymbol{\varepsilon} \propto |E_0|^2$.

Klassisessa tarkastelussa elastinen sironta selittyy tasoaallon mukana värähtelevän vapaan elektronin lähettämänä sähkömagneettisena säteilynä [16] eli Thomsonin sirontana. Epärelativistisella nopeudella liikkuvan varauksen e aikaansaama kenttä voidaan kirjoittaa (SI-yksiköissä)

$$\mathbf{E} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{e}{c^2} \left[\frac{\hat{\mathbf{e}}_R \times (\hat{\mathbf{e}}_R \times \dot{\mathbf{v}})}{R} \right]_{\text{Ret}}, \quad (3.2)$$

missä $\hat{\mathbf{e}}_R$ on varauksesta tarkastelupisteeseen osoittava yksikkövektori, R on varauksen ja tarkastelupisteen välinen etäisyys ja $\dot{\mathbf{v}}$ on varauksen kiihtyvyys. Alaindeksi Ret ("Retarded time") tarkoittaa, että lauseke lasketaan käyttäen viivästettyä aikaa $t' = t - R/c$.

Sähkömagneettinen kenttä vaikuttaa varaukseen Lorentzin voiman

$$\mathbf{F} = e(\mathbf{E} + \mathbf{v} \times \mathbf{B}) \quad (3.3)$$

välityksellä. Tasoaallon magneettikentän osuus voimasta on v/c kertaa sähkökentän osuus (tasoaallolle $B \propto E/c$), joten riittää tarkastella vain sähkökentän

osuutta. Dynamiikan peruslaista seuraa tasoaallossa värähtelevän elektronin kiihtyvyydelle lauseke

$$\dot{\mathbf{v}} = \frac{e}{m} \mathbf{E} = \frac{e}{m} \boldsymbol{\varepsilon} e^{i(\mathbf{k} \cdot \mathbf{x} - \omega t)}. \quad (3.4)$$

Sijoittamalla kiihtyvyys yhtälöön (3.2) ja kirjoittamalla yhtälössä esiintyvä vektorikolmitulo hieman toisella tapaa saadaan yhtälö, joka kuvaa sironnutta aaltoa:

$$\mathbf{E} = r_0 \frac{e^{i(kR - \omega t)}}{R} (\hat{\mathbf{e}}_R (\hat{\mathbf{e}}_R \cdot \boldsymbol{\varepsilon}) - \boldsymbol{\varepsilon}). \quad (3.5)$$

Yhtälö on kirjoitettu käyttäen klassista elektronin sädettä $r_0 = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{e^2}{mc^2}$. Suluisa oleva osa voidaan käsittää polarisaatiotilaa muuttavana operaattorina S , jonka määrittelee siis yhtälö

$$S\boldsymbol{\varepsilon} = (\hat{\mathbf{e}}_R \cdot \boldsymbol{\varepsilon}) \hat{\mathbf{e}}_R - \boldsymbol{\varepsilon}. \quad (3.6)$$

Geometrisesti tarkasteltuna S on yksinkertaisesti projektio-operaattori, joka projisoi polarisaatiotilan tasolle, jolle $\hat{\mathbf{e}}_R$ on normaali.

Säteilykenttää kuvaa kokonaisuudessaan lauseke

$$\mathbf{E} = \left(e^{i(\mathbf{k} \cdot \mathbf{x} - \omega t)} + r_0 \frac{e^{ikR}}{R} S \right) \boldsymbol{\varepsilon}, \quad (3.7)$$

joka on muodollisesti samanlainen kuin kvanttimekaniikan avulla saatu sironneen spin-1/2 hiukkasen aaltofunktio kun polarisaatiovektori $\boldsymbol{\varepsilon}$ korvataan aaltofunktion spin-osalla χ [17].

Annetun polarisaatiotilan avaruuskulmaan $d\Omega$ sirottama intensiteetti verrattuna tulevaan intensiteettiin eli *vaikutusala* on edellisen perusteella

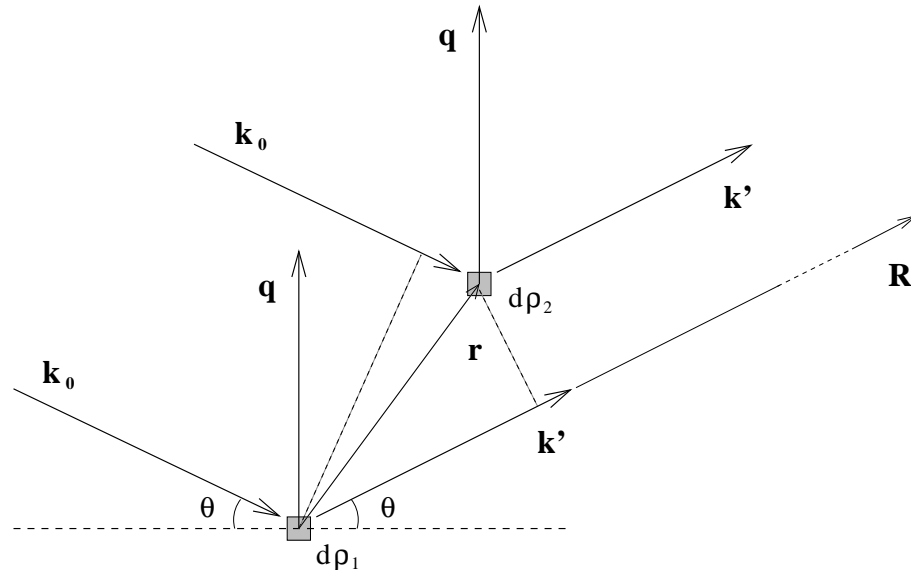
$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{r_0^2 (S\boldsymbol{\varepsilon})^* \cdot (S\boldsymbol{\varepsilon})}{\boldsymbol{\varepsilon}^* \cdot \boldsymbol{\varepsilon}} \quad (3.8)$$

Tasaisesti jakautuneen satunnaisen polarisaatiotilan omaavan säteilyn vaikutusala saadaan joko integroimalla kaikkien polarisaatiotilojen yli tai yksinkertaisemmin kuvaamalla polarisaatiotilojen tasaista jakaumaa ympyräpolarisoidulla säteilyllä

$$\boldsymbol{\varepsilon}_{\pm} = \hat{\mathbf{e}}_1 \pm i\hat{\mathbf{e}}_2, \quad (3.9)$$

missä '+' vastaa vasen- ja '-' oikeäkätisesti polarisoitunutta säteilyä. Jos alunperin suuntaan $\hat{\mathbf{e}}_3$ kulkeva säteily siroaa kulman 2θ alkuperäiseen suuntaan nähden (mielivaltaisessa) tasossa $(\hat{\mathbf{e}}_2, \hat{\mathbf{e}}_3)$, voidaan sironneen säteilyn vaikutusala laskea yhtälön (3.8) avulla. Operaattorin S määrittelee tällöin vektori $\hat{\mathbf{e}}_R = \sin\theta \hat{\mathbf{e}}_2 + \cos\theta \hat{\mathbf{e}}_3$. Pienen laskun jälkeen saadaan tulokseksi tärkeä *Thomsonin vaikutusala*

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega} \right)_{\text{Th}} = r_0^2 (1 + \cos^2(2\theta))/2. \quad (3.10)$$



Kuva 3.1: Kahden eri pisteestä sironneen säteen vaihe-ero saadaan sirontavektorin $\mathbf{q} = \mathbf{k}' - \mathbf{k}_0$ ja niiden välisen etäisyysvektorin \mathbf{r} pistetulona.

3.2 Kinemaattinen diffraktioteoria

Tarkasteltaessa sirontaa suuresta makroskooppisesta kappaleesta, eli suuresta määrästä sirottavia yksiköitä, on rakennetutkimuksen kannalta riittävän tarkka kuvaus kinemaattinen diffraktioteoria. Se perustuu seuraaville approksimaatioille: [18]

1. Tulevan säteilyn intensiteetti koko säteilytettävän tilavuuden alueella on sama, absorptio ja sironnut intensiteetti suhteessa näytteeseen saapuvaan säteilyyn ovat pieniä.
2. Sironneella säteilyllä on sama aallonpituus ja kiinteä vaihe-ero tulevaan säteilyyn nähden, eli sironta on elastista ja koherenttia.
3. Sironnut fotoni siroaa vain kerran (Bornin ensimmäisen kertaluvun approksimaatio).

Näillä approksimaatioilla jokainen näytteen elektronitiheyttä sisältävä piste toimii lähteenä Thomsonin vaikutusalalla moduloidulle palloaallolle, joiden interferenssi ilmaisimen kohdalla määrää havaitun intensiteetin.

Tarkastellaan kahta sirottavaa yksikköä, kumpikin infinitesimaalisia tilavuuselementtejä, joilla on elektronitiheydet $d\rho_1$ ja $d\rho_2$. Elementtien etäisyyden määrittelee vektori \mathbf{r} (kuva 3.1). Tuleva säteily, tasoaalto, jonka aaltovektori on $\mathbf{k}_0 = \frac{2\pi}{\lambda} \hat{\mathbf{e}}_0$ siroaa elastisesti tilavuuselementeistä.

Elementtien kohdalla tasoaallolla on vaihe-ero $e^{-ik_0 \cdot \mathbf{r}}$. Säteilynilmaisimeen, jonka paikan elementin $d\rho_1$ suhteen määrittelee vektori \mathbf{R} , saapuu summa elementtien sirottamista aalloista. Ilmaisimen etäisyyden R ollessa suuri verrattuna sisäisiin etäisyyksiin r voidaan käyttää approksimaatiota, joka tunnetaan nimellä *Fraunhoferin diffraktio*. Tässä approksimaatiossa kaikki ilmaisiin kulkevat säteet ovat yhdensuuntaisia, ja matkaeroa voidaan approksimoida parametrin r/R suhteen ensimmäisessä kertaluvussa

$$|\mathbf{R} - \mathbf{r}| - |\mathbf{R}| \approx R(1 - \mathbf{r} \cdot \hat{\mathbf{e}}_R) - R = -\mathbf{r} \cdot \hat{\mathbf{e}}_R. \quad (3.11)$$

Koska $\hat{\mathbf{e}}_R \parallel \mathbf{k}'$, vaihe-eroksi tulee $e^{i\mathbf{k}' \cdot \mathbf{r}}$. Yhdistämällä tulevan ja sironneen aallon vaihe-erot saadaan vaihetekijäksi $e^{i(\mathbf{k}' - \mathbf{k}_0) \cdot \mathbf{r}}$. On hyödyllistä määritellä *sirontavektori*

$$\mathbf{q} = \mathbf{k}' - \mathbf{k}_0, \quad (3.12)$$

jolloin sironneiden aaltojen superpositio kaukana sirottavista yksiköistä on $A = A_0 e^{i\omega t} (d\rho_1 + e^{i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}} d\rho_2) / R$, missä nimittäjässä on edelleen approksimoitu $R - r \approx R$.

Sironta kahdesta pisteestä voidaan yleistää mielivaltaisen monesta pisteestä koostuvalle kappaleelle ja aaltojen aikariippuvuus jättää huomiotta, jolloin summa-aalto jatkuvan aineen rajalla on verrannollinen lausekkeeseen

$$A(\mathbf{q}) \propto \int \rho(\mathbf{r}) e^{i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}} d^3\mathbf{r}, \quad (3.13)$$

missä ρ on elektronitiheys ja integrointi suoritetaan säteilytetyn tilavuuden yli. Yhtälö (3.13) on elektronitiheyden ρ Fourierin muunnos. Mitattava suure sironnan intensiteetti on summa-aallon amplitudin modulin neliö

$$I(\mathbf{q}) = A(\mathbf{q})^* A(\mathbf{q}), \quad (3.14)$$

mikä aiheuttaa Fourierin muunnoksen vaiheinformaation häviämisen. Elektronitiheyttä ei siis voida suoraan rekonstruoida käänteismuunnoksella.

Jos tutkittava näyte koostuu riittävän suuresta määrästä lähes identtisiä osasia, joiden orientaatio on satunnainen, niin sironnan intensiteetti on vain sirontavektorin pituuden q funktio. Pituudelle saadaan (esimerkiksi tarkastamalla kuvan 3.1 geometriaa) yhtälö

$$q = |\mathbf{q}| = 2|\mathbf{k}_0| \sin \theta = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta. \quad (3.15)$$

Fourierin muunnoksille pätevän konvoluutiolauseen [19] ansiosta yhtälö (3.14) voidaan kirjoittaa muotoon

$$I(\mathbf{q}) = \int \int \rho(\mathbf{r}') \rho(\mathbf{r}' + \mathbf{r}) d^3\mathbf{r}' e^{-i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}} d^3\mathbf{r}. \quad (3.16)$$

Keskellä havaitaan olevan rakenteen autokorrelaatiofunktio, jota kutsutaan myös Pattersonin funktioksi:

$$\gamma(\mathbf{r}) = \int \rho(\mathbf{r}')\rho(\mathbf{r}' + \mathbf{r})d^3\mathbf{r}'. \quad (3.17)$$

3.3 Sironta heikosti järjestyneestä aineesta

3.3.1 Yleistä

Heikosti järjestyneellä aineella tarkoitetaan tässä ainetta, jonka rakenne on keskimäärin isotrooppisia ja jossa ei ole pitkän kantaman järjestystä.

Isotropiasta seuraa, että yhtälöstä (3.16) täytyy ottaa suuntakeskiarvo. Eksponenttifunktiolle saadaan pienen laskun jälkeen

$$\langle e^{i\mathbf{q}\cdot\mathbf{r}} \rangle_{\Omega} = \frac{\sin(qr)}{qr}. \quad (3.18)$$

Tällöin isotrooppisen sironnan yhtälöksi saadaan

$$I(q) \propto \int r^2 \gamma(r) \frac{\sin(qr)}{qr} dr, \quad (3.19)$$

kun myös korrelaatiofunktio γ keskiarvoistetaan suunnan suhteen. Yhtälö (3.19) on sinimuunnos, sironnan intensiteetistä saadaan siis isotrooppinen etäisyysjakauma käänteismuunnoksella.

Pitkän kantaman järjestyksen puuttuessa voidaan tarkastella yksittäisiä äärellisiä rakenteita ja perustellusti olettaa, että mitattu intensiteetti on vain näiden rakenteiden itsensä eikä niiden keskinäisen interferenssin funktio. Oletetaan, että tutkittava systeemi koostuu joukosta identtisiä satunnaisesti orientoituneita yksiköitä, jotka puolestaan koostuvat kompakteista pallosymmetrisistä osasista. Tällöin voidaan yhtälössä (3.13) esiintyvä aineen elektronitiheyden Fourierin muunnos kirjoittaa muodossa

$$A(\mathbf{q}) = \sum_m f_m(q) e^{i\mathbf{q}\cdot\mathbf{r}_m}, \quad (3.20)$$

missä summa käy yksikön kaikkien osasten yli ja $f_m(q)$ on osan m elektronitiheyden Fourierin muunnos, joka tunnetaan myös nimellä *sirontatekijä*. Se on pallosymmetrisyyden vuoksi vain sirontavektorin pituuden q funktio.

Keskiarvoistetaan jälleen yhtälössä esiintyvä eksponenttifunktio suunnan suhteen, jolloin voidaan intensiteetille johtaa kaava

$$I(q) = \sum_{m,n} f_m f_n \frac{\sin(qr_{mn})}{qr_{mn}}, \quad (3.21)$$

joka tunnetaan yleisesti nimellä *Debyen yhtälö*. Yhtälössä on käytetty lyhennysmerkintää $r_{mn} = |\mathbf{r}_m - \mathbf{r}_n|$. Debyen yhtälö on varsin hyödyllinen mallinnettaessa rakenteita, jotka täyttävät edellä mainitut heikosti järjestyneen aineen ehdot.

3.3.2 Pienkulmasironta

Röntgensäteilyn pienkulmasironnalla tarkoitetaan kokeellisia menetelmiä, joissa pyritään tutkimaan atomien ja röntgensäteilyn aallonpituuden mittakaavaan nähden suuria, kokoluokaltaan 10 - 1000 Å:in rakenteita. Kuten kinemaattisen sironnan perusyhtälöstä (3.13) käy ilmi, tämän suuruusluokan toistuvat rakenteet aiheuttavat sirontaa varsin pienille q :n arvoille (0.006 - 0.6 Å⁻¹), jotka vastaavat säteilylähteenä yleisesti käytetyllä kuparin K_α -spektriivillä sirontakulmia θ välillä 0.045° - 4.5°.

Pienet sirontakulmat vaativat koelaitteistolta laajakulmasirontaan nähden erilaisia ominaisuuksia, mikä oikeuttaa pienkulmasironnan aseman erillisenä tutkimusalana muuhun diffraktioon ja elastiseen sirontaan perustuvaan rakennetutkimukseen verrattuna. Intensiteetti samalla sirontavektorin arvolla saataisiin toki mitattua suuremmilla kulmilla, jos käytetyssä säteilylähteessä olisi suurempi aallonpituus (yhtälö (3.15)), mutta matalaenergisien röntgensäteilyn suurempi absorptio tyypillisesti tutkittavissa materiaaleissa estää tämän [20].

Teorian tasolla pienkulmasironnan suurin ero diffraktioon nähden on pienen kokoluokan rakenteiden elektronitiheyden approksimointi vakioksi. Intensiteettimittausten perusteella määritettävä suure ei ole suoraan elektronitiheys, vaan rakenteen aiheuttama poikkeama keskiarvotiheyteen. Suuren kokoluokan rakenteet ovat myös yleensä pieniä rakenteita heikommin järjestyneitä, mikä johtaa yleensä erilaisten parakidemallien käyttöön [21].

Edelleen voidaan tiiviin aineen pienkulmasironnan lisäksi erottaa omaksi alakseen proteiinien ja muiden makromolekyylien harvoista liuoksista mitattu pienkulmasironta. Mittauksilla pyritään tällöin määrittämään yksittäisen molekyylin rakenne. Molekyylien satunnaisen orientaation ja vain pienille kulmille rajoittuneen intensiteetin takia ei tietenkään päästä kovin suureen resoluutioon, mutta huolellisella mallintamisella voidaan makromolekyylin muodosta saada informaatiota [22].

3.3.3 Fraktaaliset rakenteet

Fraktaalit

Tietyille heikosti järjestyneille rakenteille osoittautuu hyödylliseksi määritellä eräänlainen ulottuvuus, parametri, joka kertoo rakenteen toteuttamasta skaalautumista. Merkitään rakennetta ympäröivän avaruuden dimensiota kirjaimella d . Fysikaalisille rakenteille d on (ainakin useimmiten) 3. Intuitiivisesti tiedetään, että pisteen muodostalla rakenteella ei ole ulottuvuutta, viiva on yksiulotteinen, taso kaksiulotteinen ja pallo tai kuutio kolmiulotteinen rakenne. Kolmiulotteisen sileän kappaleen pinta taas on kaksiulotteinen ja tasokappaleen sileä reunakäyrä yksiulotteinen. Yleisesti d_k -ulotteisen kappaleen pinnan ulottuvuus d_p on yhtä pienempi kuin kappaleen ulottuvuus, $d_p = d_k - 1$.

Yksi tapa määrittää kappaleen ulottuvuus on laskea sen mielivaltaisen pisteen paikan esittämiseen vaadittavien koordinaattien lukumäärä. Ulottuvuus voidaan määritellä myös toisella, kenties täsmällisemmällä tavalla, joka johtaa siihen, että ulottuvuus ei ole aina kokonaisluku. Näin määritettyjä ulottuvuuksia sanotaan rakenteen *fraktaalidimensioksi* tai *Hausdorffin-Besicovitchin dimensioksi* ja merkitään tässä symbolilla D .

Pintafraktaalien Hausdorffin-Besicovitchin dimensio voidaan määrittää seuraavasti [23]: Yleisesti voidaan d -ulotteisessa avaruudessa olevan pinnan ala määrittää peittämällä se r -säteisillä d -ulotteisilla palloilla. Ala on tällöin verrannollinen pallojen määrään $N(r)$, joka kasvaa r :n funktiona

$$N(r) \propto r^{-D}, \quad (3.22)$$

josta saadaan Hausdorffin-Besicovitchin dimensio

$$D = \lim_{r \rightarrow 0} \frac{\ln N(r)}{\ln(1/r)}. \quad (3.23)$$

Sileille pinnoille $D = d - 1$, mutta jos pinnasta löytyy yksityiskohtia mielivaltaisen pienillä etäisyyksillä on $d - 1 < D < d$. Tällöin pinta on fraktaalinen.

Pintafraktaaleilla on monimutkainen kuori, mutta sisältä ne ovat homogeenisiä. *Massafraktaaleiksi* sanotaan kappaleita, joissa fraktaalisuus ulottuu koko kappaleeseen. Ajatellaan, että kappaleesta leikataan R -säteinen pallo, jonka sisällä oleva rakenne peitetään r_0 -säteisillä ($r_0 = \text{vakio}$) pienemmillä palloilla. Rakenteeseen kuuluva osuus kappaleesta on tällöin verrannollinen pienien pallojen lukumäärään $N_R(r_0)$. Kun sädettä R kasvatetaan, kasvaa pallojen lukumäärä:

$$N_R(r_0) \propto R^D, \quad (3.24)$$

josta voidaan jälleen ratkaista Hausdorffin-Besicovitchin dimensio

$$D = \lim_{R \rightarrow \infty} \frac{\ln N_R(r_0)}{\ln(R)}. \quad (3.25)$$

Tämä dimensio on jälleen kiinteille tai äärellisen määrän yksityiskohtia sisältäville kappaleille d . Fraktaalille kappaleille $D < d$, massafraktaalit ovat siis rakenteita, jotka sisältävät tyhjiä alueita jokaisessa mittakaavassa ja muuttuvat harvemmiksi mitä laajempaa aluetta tarkastellaan.

Fyysiset kappaleet ovat äärellisen kokoisia, ja ne rakentuvat äärellisen kokoisista osista (atomit, molekyylit). Luonnossa itsesimilaarisuutta ja fraktaalisuutta on ainoastaan kahden mittakaavaskaalan R_{\min} ja R_{\max} välistä. Useimmat fyysisen maailman fraktaalirakenteista ovat myös satunnaisia. Tällöin itsesimilariteetti ja skaalainvarianssi on vain keskimääräistä.

Sironta fraktaalista rakenteista

Tarkastellaan keskenään samankokoisten massafraktaalihiukkasten, esimerkiksi satunnaiskävelyprosessin muodostamien agregaattien laimeaa liuosta.

Massafraktaalien elektronitiheys on jossain mittakaavavälissä $r_0 \dots R$ skaalainvariantti. Tästä seuraa, että elektronitiheyden autokorrelaatiofunktio

$$\gamma(r) = \int \rho(r')\rho(r' + r)dr' \quad (3.26)$$

on myöskin skaalainvariantti. Näin käy, kun autokorrelaatiofunktio toteuttaa yhtälön [23]

$$\gamma(br) \propto b^{-\alpha}\gamma(r). \quad (3.27)$$

Voidaan osoittaa, että autokorrelaatiofunktion on tällöin oltava muotoa

$$\gamma(br) \propto r^{-\alpha}. \quad (3.28)$$

Edelleen voidaan osoittaa, että eksponentti $\alpha = d - D$. Fyysiset oliot sijaitsevat kolmiulotteisessa avaruudessa, jolloin $d = 3$.

Äärellisen kokoisille kappaleille autokorrelaatiofunktio ei kuitenkaan toteuta potenssilakia kaikissa mittakaavaluokissa, vaan se täytyy kertoa kappaleen koon määräävällä funktiolla $h(r/R)$ joka toteuttaa ehdot $h(x) = 1$, kun $x < 1$ ja sen, että $h(x)$ menee nopeasti nollaan, kun $x > 1$.

Autokorrelaatiofunktio määrää suoraan pienkulmasironnan intensiteetin, joka on sen sinimuunnos [24]

$$I(q) = \int_0^R \gamma(r)r^2 \frac{\sin(qr)}{qr} dr \quad (3.29)$$

missä R on fraktaalisen kappaleen suurin sisäinen etäisyys. Sijoittamalla $\gamma(r)$:n paikalle autokorrelaation potenssilakiverrannollisuus r^{D-3} ja vaihtamalla muuttujaa ($r = ar'$), saadaan ylläolevasta lausekkeesta massafraktaalien sirontaintensiteetille verrannollisuus $I(q) \propto q^{-D}$, joka pätee alueella $qR > 1$ ja $qr_0 < 1$.

Fraktaalidimensio voidaan siis suoraan määrittää intensiteetin kaksoislogaritmikuvaajan avulla. Pintafraktaaleille voidaan johtaa samantapainen potenssilakiriippuvuus, joka kuuluu $I(q) \propto q^{D_s-2d}$, missä D_s on pintafraktaalien fraktaalidimensio.

Suurilla kulmilla $q > 1/r_0$ sironnan intensiteetti kertoo aggregaattien tapauksessa aggregaatin muodostavien kappaleiden rakenteesta. Osapartikkelien voi ajatella olevan homogeenisia palloja, jolloin sironta tällä alueella olisi yksinkertaisesti sama kuin pallolla. Aggregaatit koostuvat kuitenkin kappaleista, joiden säde vaihtelee [25], jolloin parempi malli olisi pallojakauman sirontafunktio. Joka tapauksessa aggregaatit yleensä koostuvat kappaleista, jotka ovat pinnaltaan sileitä, jolloin suurilla kulmilla pätee Porodin laki:

$$I(q) \propto \frac{1}{q^4}. \quad (3.30)$$

Pienillä sirontakulmilla $q < 1/R$ sirontaan vaikuttavat suuren kokoluokan rakenteet. Monodispersin liuoksen tapauksessa suurin merkitys on tällöin skaalafunktiolla $h(r/R)$. Mallinnuksessa käytettävä funktio riippuu tutkittavasta aineesta, eikä yleispätevää ehdokasta tietenkään ole. Yleisesti voidaan liuoksessa oleville kappaleille johtaa Guinierin laki

$$I(q) = I(0) \exp(-q^2 R_g^2/3) \quad (3.31)$$

kehittämällä yhtälössä (3.29) oleva sinitekijä potenssisarjaksi. Näin saadaan arvio aggregaatin koolle hitaussäteestä R_g .

3.4 Sironta kiteisestä aineesta

3.4.1 Hila ja käänteishila

Kiteisissä aineissa molekyylit ovat järjestäytyneet hilaan. Hila koostuu ääretömästä joukosta identtisiä hilapisteitä, joiden jokaisen ympäristö on samanlainen [18]. Kolmessa ulottuvuudessa kaikkien hilapisteiden paikat voidaan kirjoittaa hilan kantavektorien \mathbf{a}_i lineaarikombinaationa

$$\mathbf{r} = \mathbf{r}_{uvw} = u\mathbf{a}_1 + v\mathbf{a}_2 + w\mathbf{a}_3, \quad (3.32)$$

missä u, v ja w ovat kokonaislukuja. Kantavektorien määrittämä suuntaissärmiö on nimeltään kiteen *yksikkökoppi*. Toinen tapa määritellä hila on kuuden *hilavakion* avulla. Ne ovat kolmen kantavektorin pituudet a, b, c ja niiden väliset kulmat α, β, γ .

Koko kiteen elektronitiheys voidaan kirjoittaa yksikkökopin elektronitiheyden konvoluutiona deltafunktiohilan kanssa:

$$\rho(\mathbf{r}) = f(\mathbf{r}) \star \left(M_L(\mathbf{r}) \sum_{uvw} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_{uvw}) \right), \quad (3.33)$$

missä $f(\mathbf{r})$ on hilapisteen ympäristön elektronitiheys, $M_L(\mathbf{r})$ on äärellisen hilan koon määrittelevä muotofunktio ja \mathbf{r}_{uvw} on yhtälön (3.32) mukainen etäisyys mielivaltaisesta, origoksi valitusta hilapisteestä.

Yhtälön (3.33) Fourierin muunnos on konvoluutioteoreeman [19] mukaan yhtäkuin hilan ja ympäristön muunnosten tulo:

$$A(\mathbf{q}) \propto \int f(\mathbf{r}) e^{i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}} d^3\mathbf{r} \times \int M_L(\mathbf{r}) \sum_{uvw} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_{uvw}) e^{i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}} d^3\mathbf{r}. \quad (3.34)$$

Asetetaan nyt muotofunktio $M_L(\mathbf{r})$ väliaikaisesti ykköseksi, jolloin integrointi äärettömän hilan yli voidaan helposti suorittaa, ja tulokseksi saadaan

$$A(\mathbf{q}) \propto F(\mathbf{q}) \sum_{uvw} e^{i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}_{uvw}}, \quad (3.35)$$

missä $F(\mathbf{q})$ on elektronitiheyden $f(\mathbf{r})$ Fourierin muunnos.

Vektori \mathbf{r}_{uvw} voidaan jakaa komponentteihin hilan kannassa \mathbf{a}_i , jolloin yllä oleva summa voidaan jakaa kolmeen osaan,

$$A(\mathbf{q}) \propto F(\mathbf{q}) \sum_{uvw} e^{i\mathbf{q} \cdot (u\mathbf{a}_1 + v\mathbf{a}_2 + w\mathbf{a}_3)} = F(\mathbf{q}) \sum_u e^{i\mathbf{q} \cdot u\mathbf{a}_1} \sum_v e^{i\mathbf{q} \cdot v\mathbf{a}_2} \sum_w e^{i\mathbf{q} \cdot w\mathbf{a}_3}. \quad (3.36)$$

Äärettömälle hilalle summat antavat nollasta eroavan tuloksen vain, kun eksponenttifunktion arvo on 1. Amplitudin maksimi havaitaan siis, kun voimassa ovat *Lauen ehdot*:

$$\mathbf{q} \cdot \mathbf{a}_i = n2\pi, \quad i \in \{1, 2, 3\}. \quad (3.37)$$

Hilan kantavektoreista voidaan muodostaa *käänteishila*, jonka kantaa merkitään \mathbf{a}_i^* ja jonka hilapisteet täyttävät Lauen ehdot:

$$\begin{aligned} \mathbf{a}_1^* &= 2\pi\mathbf{a}_2 \times \mathbf{a}_3 / V \\ \mathbf{a}_2^* &= 2\pi\mathbf{a}_3 \times \mathbf{a}_1 / V \\ \mathbf{a}_3^* &= 2\pi\mathbf{a}_1 \times \mathbf{a}_2 / V \\ V &= \mathbf{a}_1 \cdot (\mathbf{a}_2 \times \mathbf{a}_3). \end{aligned} \quad (3.38)$$

Ne sirontavektorin \mathbf{q} arvot, joilla amplitudi poikkeaa nollasta, voidaan nyt kirjoittaa käänteishilan kantavektorien kokonaislukukertoimisina lineaarikombinaatioina:

$$\mathbf{q}_{hkl} = h\mathbf{a}_1^* + k\mathbf{a}_2^* + l\mathbf{a}_3^*. \quad (3.39)$$

Kokonaislukuja h, k ja l kutsutaan *Millerin indekseiksi*. Ne määrittelevät kiteen hilatasot, joita merkitään notaatiolla (hkl) . Voidaan osoittaa [26], että vektori \mathbf{q}_{hkl} on hilatason (hkl) normaalin suuntainen ja että hilatasojen välinen etäisyys on suoraan verrannollinen sen pituuden käänteislukuun,

$$|\mathbf{q}_{hkl}| = 2\pi/d_{hkl}. \quad (3.40)$$

Edellisen perusteella nähdään, että hilan kantavektorien \mathbf{a}_i määräämän deltafunktiohilan Fourierin muunnos on käänteishilavektorien \mathbf{a}_i^* määräämä deltafunktiohila. Sironnan amplitudiksi saadaan

$$A(\mathbf{q}) \propto F(\mathbf{q}) \sum_{hkl} \delta^{(3)}(\mathbf{q} - \mathbf{q}_{hkl}). \quad (3.41)$$

Sironnan amplitudi kulman funktiona koostuu siis erillisistä maksimeista, jossa yksittäisen maksimin amplitudi on alkuperäisen elektronitiheyden kolmiulotteisen Fourierin sarjan kompleksinen kerroin, $F(\mathbf{q}_{hkl}) = F_{hkl}$.

3.4.2 Jauhediffraktio

Luonnossa esiintyy harvoin suuria, makroskooppisia yhtenäiskiteitä. Kiteinen aine koostuu tavallisesti pienistä kiteisistä osista, kristalliiteista. Kun kristalliittien orientaatio on satunnainen ja niiden määrä säteilytetyssä tilavuudessa on riittävä, säteily siroaa näytteestä kartiomaisina keiloina, jotka esimerkiksi filmillä tai muulla kaksiulotteisella säteilynilmaisimella havaitaan niin kutsuttuina Debyen renkaina. Sirontavektorista riittää tällöin tietää ainoastaan sen pituus. Hilatasojen etäisyydelle ja havaitun intensiteettimaksimin sirontakulmalle 2θ voidaan yhtälöiden (3.15) ja (3.40) avulla johtaa yhteys, *Braggin laki*:

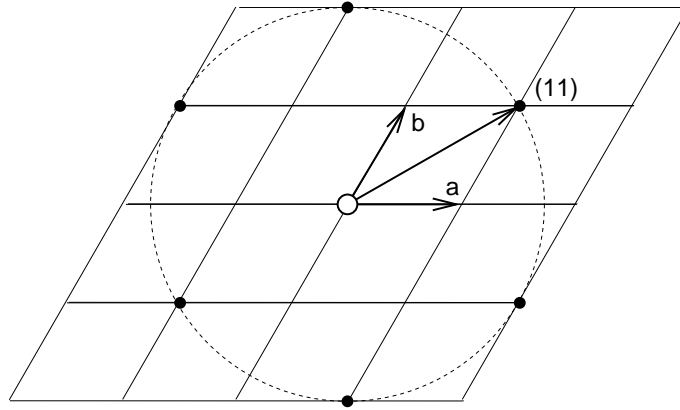
$$2d \sin \theta = \lambda. \quad (3.42)$$

Yksikkökopin sisältämän elektronitiheyden selvittäminen monikiteisestä, satunnaisesti orientoituneesta näytteestä tehdyn diffraktiomittauksen perusteella on vaikea ongelma, joka onnistuu vain riittävän yksinkertaisille rakenteille. Päinvastainen ongelma, diffraktiomaksimien intensiteettien laskeminen, kun tiedetään hilan tyyppi ja yksikkökopin sisältö on sen sijaan huomattavasti helpompi.

Tarkastellaan esimerkkinä heksagonaalista hilaa, joka on myös B-tyypin tärkkelilyksen hila. Heksagonaalisessa hilassa kaksi kantavektoria \mathbf{a} ja \mathbf{b} ovat yhtä pitkät ja vektorien väliset kulmat ovat $\alpha = \beta = 90^\circ$ ja $\gamma = 60^\circ$

Lauen diffraktioehdot kertovat, että diffraktio havaitaan vain käänteishilan hilapisteissä. Käänteishilan pisteisiin (h, k, l) osoittavien käänteishilavektorien pituudet saadaan yleisesti yhtälön

$$|\mathbf{q}_{hkl}|^2 = \mathbf{h}^T \mathbf{G} \mathbf{h} \quad (3.43)$$



Kuva 3.2: Hilapistettä (11) vastaavat hilapisteet kaksiulotteisessa heksagonaalissa hilassa.

avulla. Vektori \mathbf{h} sisältää indeksit (h, k, l) ja G on käänteishilan kannan metri-
nen tensori

$$G = g_{ij} = \mathbf{a}^*_i \cdot \mathbf{a}^*_j. \quad (3.44)$$

Heksagonaalisen hilan tapauksessa saadaan käänteishilavektorin pituuden, heijastuksen Millerin indeksien ja suoran hilan hilavakioiden välille yhtälö

$$|\mathbf{q}_{hkl}| = 2\pi \sqrt{\frac{4(h^2 + hk + k^2)}{3a^2} + \frac{l^2}{c^2}}. \quad (3.45)$$

Ylläolevasta kaavasta näkyy selvästi heksagonaalisen hilan symmetria. Useat (hkl) -arvot tuottavat saman pituisen käänteishilavektorin, jotka tuottavat heijastuksen samalle kulman tai q :n arvolle. Samanpituisten \mathbf{q}_{hkl} vektorien määrä on heijastuksen (hkl) *multiplisiteetti*. Esimerkiksi muotoa $(nn0)$ olevan heijastuksen multiplisiteetti on niiden kokonaislukuparien (h, k) lukumäärä, joille pätee $h^2 + hk + k^2 = 3n^2$. Ainakin lukuparit (n, n) , $(n, -2n)$, $(n, -2n)$ ja näiden negaatiot täyttävät ehdon. Kaksiulotteista heksagonaalista hilaa (kuva 3.2) tarkastelemalla on myös helppo vakuuttua, että nämä ovat myös ainoat hilapisteet, jotka tuottavat halutun pituisen vektorin, siis $(nn0)$ olevan heijastuksen multiplisiteetti on kuusi. Heijastusten multiplisiteettikertoimet löytyvät toki helpoiten käsi- tai oppikirjoista, kuten [26] tai [18].

Multiplisiteettitekijän käytännön hyödyllisyyttä yleisessä tapauksessa vähentää se, että kiteen rakennetekijä F_{hkl} ei välttämättä ole yhtä suuri kaikille samanpituisille vektoreille \mathbf{q}_{hkl} . Yhteenlaskettu rakennetekijä sirontavektorin arvolla q_{hkl} havaitulle heijastukselle on

$$F_{\{hkl\}} = \sum_{\{hkl\}} \sum_m f_m(q_{hkl}) e^{i\mathbf{q}_{hkl} \cdot \mathbf{r}^m}. \quad (3.46)$$

Summaukset suoritetaan kaikkien ekvivalenttien hilapisteiden $\{hkl\}$ ja yksikkökopin atomien yli.

Heijastuksen voimakkuuteen vaikuttavat myös jo aiemmin mainittu Thomsonin vaikutusala (3.10) ja Debyen ja Wallerin lämpötekijä [18]

$$T(q) = \exp \left(-2B \frac{q^2}{(4\pi)^2} \right). \quad (3.47)$$

Lämpötekijä ei juurikaan muuta maksimin silminnähtävää muotoa. Sen vaikutuksesta sironnut säteily, joka olisi kylmässä kiteessä havaittu maksimin kohdalla, on levinnyt laajalle alueelle maksimin ympäristöön, jolloin sen erottaminen näytteessä olevien muiden sirottavien komponenttien aiheuttamasta taustasta on vaikeaa. Yhtälön (3.47) määrittelemä korjaus ei säilytä kiteisen aineen sirottamaa kokonaisintensiteettiä.

Edellä mainittujen lisäksi joudutaan ottamaan huomioon erilaisia näytteen absorptiosta, mittauserometriasta ja käytetystä laitteistosta johtuvia tekijöitä, joita käsitellään tarkemmin seuraavassa luvussa.

3.5 Röntgendiffraktioon perustuvia analyysimenetelmiä

3.5.1 Heijastuksen muotoanalyysi

Jauhediffraktiokokeessa havaitun intensiteettimaksimin muoto riippuu useista tekijöistä, joista vähäisimpiä eivät ole käytetyn mittaustaitteiston ja sen geometrian vaikutus [18]. Jos laitteiston vaikutus otetaan huomioon, jää jäljelle näytteen ominaisuuksista riippuva osuus. Kääntäen voidaan intensiteettimaksimin muotoa (lähinnä sen leveyttä) tutkimalla saada tietoa joistakin näytteen ominaisuuksista.

Mikrokiteisen aineen diffraktiomaksimin muotoon vaikuttavat monet näytteen rakenteesta ja tilasta riippuvat seikat. Kenties suurin vaikutus on kristalliitin koolla, mutta myös aineessa olevat jännitykset, näytteen lämpötila ja sen rakenteen poikkeavuus täydellisestä kiderakenteesta (parakiteinen aine) [21] vaikuttavat intensiteettimaksimin muotoon.

Tässä työssä intensiteettimaksimin muotoa on analysoitu sen puoliarvonleveyden avulla. Lisäksi on tehty se oletus, että heijastuksen leveneminen laitteiston vaikutusta lukuunottamatta aiheutuu kiteisen alueen äärellisestä koosta. Koska mitatut näytteet ovat biologista materiaalia, joiden rakenne ei muodosta täydellistä mikrokidettä siinä mielessä kuin esimerkiksi metalleissa havaitut rakeet, tämä oletus on väärä. Oikea malli näytteille olisi äärellinen para-

kide, jossa esiintyvien hilavirheiden tyyppi pitäisi erikseen tutkia. Myöhemmissä luvuissa tuloksena ilmoitettuja kidekokoja L onkin pidettävä näytteen kiteisen järjestyksen kokoluokkaa ja toisaalta kiteen täydellisyyttä kuvaavana parametrina, jonka laatu on pituus. Puhtaasti kidekokona ajateltuna L antaa alarajan kidekoolle, jos oletetaan, että muita intensiteettimaksimia leventäviä tekijöitä ei näytteessä ole.

Johdetaan seuraavaksi diffraktiomaksimin leveyden ja ideaalisen mikrokitteen koon L välinen suhde. Kristalliitin äärellinen koko aiheuttaa sen, että kaavassa (3.34) oleva muotofunktio on otettava huomioon. Äärellisen hilan Fourierin muunnos voidaan konvoluutioteoreeman ja edellisten tulosten avulla kirjoittaa muotoon

$$\begin{aligned} \int M_L(\mathbf{r}) \sum_n \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_n) e^{i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}} d^3\mathbf{r} &= \tilde{M}_L(\mathbf{q}) \star \sum_{hkl} \delta(\mathbf{q} - \mathbf{q}_{hkl}) \\ &= \sum_{hkl} \tilde{M}_L(\mathbf{q} - \mathbf{q}_{hkl}). \end{aligned} \quad (3.48)$$

Jokainen diffraktiomaksimi siis konvoloituu muotofunktion Fourierin muunnoksella $\tilde{M}_L(\mathbf{q})$.

Valitaan esimerkin vuoksi muotofunktioksi yksinkertaisin mahdollinen – kuutio, jonka sivun pituus on L :

$$\begin{aligned} M_L(\mathbf{r}) &= m_L(x)m_L(y)m_L(z) \\ m_L(a) &= \begin{cases} 1, & \text{kun } |a| < L/2 \\ 0 & \text{muutoin.} \end{cases} \end{aligned} \quad (3.49)$$

Yksiulotteisen laatikkofunktion $m_x(x)$ Fourierin muunnos on tunnetusti

$$\int_{-L/2}^{L/2} e^{iqx} dx = \frac{2 \sin(qL/2)}{q} = L \frac{\sin(qL/2)}{qL/2}. \quad (3.50)$$

Koska $\lim_{x \rightarrow 0} \sin(x)/x = 1$, saadaan intensiteetin puoliarvonleveys seuraavasta yhtälöstä:

$$\frac{A^2}{A_0^2} = \frac{\sin^2(\Delta q L/2)}{(\Delta q L/2)^2} = \frac{1}{2}. \quad (3.51)$$

Tästä voidaan ratkaista $\Delta q L/2 = 1.40$, missä $\Delta q = q - q_{\max}$ on sirontavektorin poikkeama intensiteettimaksimin antavasta arvosta. Kulmayksiköissä pieniä poikkeamia voidaan approksimoida differentioimalla sirontavektorin pituus (3.15)

$$\Delta q = \Delta \left(\frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta \right) \approx \frac{4\pi}{\lambda} \cos \theta_B \Delta \theta, \quad (3.52)$$

missä θ_B on Braggin kulma, eli kulma, jossa havaitaan intensiteettimaksimi.

Yhdistämällä ylläolevat yhtälöt saadaan äärellisen kidekoon L aiheuttamalle diffraktiopiikin puoliarvonleveydelle β diffraktiomittauksissa käytetyissä 2θ -kulmayksiköissä kaava

$$\beta = 2 \cdot 2\Delta\theta = \frac{4\lambda \cdot 1.40}{2\pi L \cos \theta_B} = \frac{0.89\lambda}{L \cos \theta_B}, \quad (3.53)$$

joka on yleisesti tunnettu nimellä *Scherrerin yhtälö*. Vakio 0.89 riippuu käytetystä muotofunktiosta ja se on suurusluokaltaan aina noin 1.

3.5.2 Faasiosuuksien määrittäminen

Jos voidaan perustellusti olettaa, että tutkittava näyte sisältää ainetta eri faaseissa, toisin sanoen on olemassa makroskooppisia tai mesoskooppisia alueita, joissa joko aineen atomikoostumus tai aineen atomien järjestys on alueiden kesken erilainen, voidaan röntgensirontaa käyttää faasien suhteellisten osuuksien määrittämiseen.

Analyysi perustuu siihen olettamukseen, että näytteen diffraktiokuvioista voidaan riittävällä tarkkuudella ja varmuudella erottaa eri faasien diffraktiokuvioiden osuudet. Näytteestä mitatun intensiteetin I on siis oltava puhtaiden faasien intensiteettien I_m lineaarikombinaatio:

$$I = \sum_m \alpha_m I_m. \quad (3.54)$$

Suurin tarkkuus saavutetaan, jos halutut tilavuus- tai massaosuudet voidaan määrittää kertoimien α_m funktiona suoraan mittaamalla sarja näytteitä, jotka sisältävät tunnetut osuudet eri faaseja. Tämä menetelmä tunnetaan nimellä *sisäisen standardin menetelmä* [18].

Jos tällaisia standardeja ei voida valmistaa, mutta on mahdollisuus mitata faasit puhdasaineina, voidaan massaosuudet silti määrittää. Kahden faasin systeemeissä riittää mitata vain toinen faaseista puhtaina, jos faasien massaabsorptiokertoimet μ_m/ρ_m tunnetaan tai ne ovat samat. Lineaarinen absorptiokerroin μ määritellään yhtälöllä

$$\frac{I}{I_0} = \exp(-\mu T), \quad (3.55)$$

missä T on näytteen paksuus ja I_0 ja I ovat näytteeseen tulevan ja näytteen läpäisseen röntgensäteilyn intensiteetit. Tämä menetelmä on nimeltään *ulkoisen standardin menetelmä*.

Tässä työssä mitatuille näytteille ei kumpaakaan edellämainituista kalibrointimenetelmistä ollut mahdollinen, sillä mitatuille faaseille ei ole olemassa puhdasainestandardia. Tässä tapauksessa faasiosuuksien määrittäminen

kovin tarkasti ei ole mahdollista, mutta näytesarjan sisäisiä vertailuja faasien osuuksista pystytään tekemään. Menetelmä perustuu oletukselle siitä, että sirottavat yksiköt ovat toisistaan riippumattomia, eli näyte jakautuu yksiköihin, joiden välillä ei ole etäisyyskorrelaatioita eikä interferenssiä. Tällöin sirottavien yksiköiden määrä ja samalla kyseiset yksiköt sisältävän faasin tilavuus on suoraan verrannollinen kertoimiin α_m .

Malliaineiden sirontakuviot I_m voivat olla joko kokeellisesti määritettyjä tai mallien perusteella laskettuja. Kertoimet α_m saadaan sovittamalla sirontakuviot näytteestä mitattuun sironnan intensiteettiin. Tässä työssä käytettyjä menetelmiä sovitukseen ja mallinnukseen käsitellään tarkemmin luvussa 5.

Absoluuttiasteikkoon normitus voidaan tehdä kertomalla α_m :t sovitusalueelta lasketulla sironneen säteilyn energian ja faasin elektronitiheyden neliön suhteella

$$\frac{\int_{q_{\min}}^{q_{\max}} q^2 I_m(q) dq}{\rho_m^2}. \quad (3.56)$$

Peruste tälle normalisoinnille on relaatio [24]

$$\int I(\mathbf{q}) d\mathbf{q} = 4\pi \int q^2 I(q) dq \propto \gamma(0) = \int_V \rho(\mathbf{r}) \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = V \rho^2, \quad (3.57)$$

missä $\gamma(\mathbf{r})$ on rakenteen Pattersonin funktio (3.17), eli sisäisten etäisyyksien jakauma. Sovituksessa käytetty kulma-alue ei kata koko sironnutta intensiteettiä, joten tällainen normalisaatio ei tuota faasien osuuksille arvoa, joka pätsi absoluuttisesti. Koska nollakulmalle sironnutta intensiteettiä ei voida mitata ja muille kulmille sironneen intensiteetin osuus on vahvasti aineen rakenteesta riippuva, ei yleispätevää normalisaatiota voida tehdä. Tässä työssä esitetyt absoluuttiarvot faasiosuuksille ovat siis kalibraationäytteiden puutteen takia lähinnä suuntaa antavia, mutta osuuksien vaihtelusta näytesarjan sisällä voidaan tehdä jokseenkin luotettavia johtopäätöksiä, jos edellä mainitut oletukset pätevät.

Luku 4

Mittalaitteet ja mittaukset

What people mean by the word 'technology' is the stuff that doesn't really work yet.

Danny Hillis

4.1 Diffraktio (WAXS)

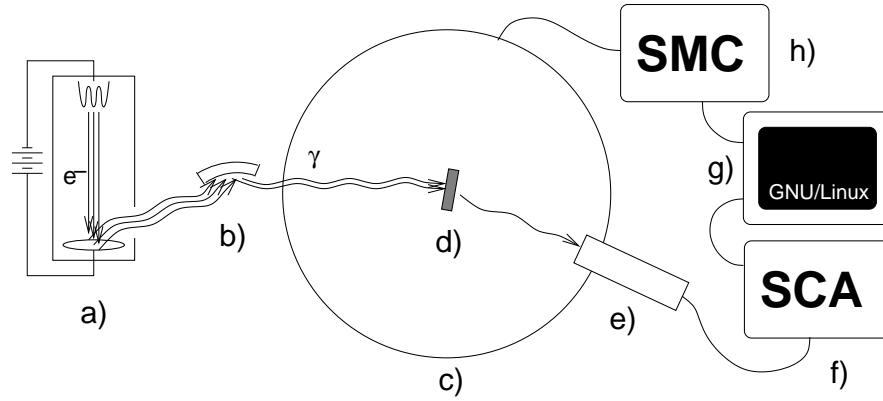
4.1.1 Laitteisto

Näytteiden diffraktiokuviot mitattiin Helsingin Yliopiston Röntgenfysiikan osaston Bragg-Brentano -tyyppisellä diffraktometrillä. Laitteiston (kuvat 4.1 ja 4.4) säteilylähde oli suljettu, kuparianodinen röntgenputki, jonka spektrin K_{α_1} -viiva monokromatisoitiin Johansson-tyyppisellä fokusoivalla kidemonokromaattorilla. Monokromaattorikide oli kvartsia, heijastustaso oli (1011) ja heijastuskulma $\alpha = 13^\circ 24'$. Monokromaattisen säteilyn aallonpituus oli 1.54 \AA . Näyteteline ja ilmaisin kiinnitettiin Siemensin valmistamaan $\theta - 2\theta$ -pöytään, jota ohjattiin tietokoneen avulla askelmoottorilla. Käytetty mittauserometria oli symmetrinen läpäisy. Näyteteline mahdollisti näytteen pyörittämisen sen pinnan normaalin suuntaisen akselin ympäri (χ -kulma). Röntgenilmaisimena käytettiin tuikeilmaisinta, jonka signaalit rekisteröitiin pulssianalysaattorilla ja tallennettiin tietokoneen muistiin.

4.1.2 Laitteistokorjaukset

Mallinnettaessa mittaustuloksia on kinemaattisen teorian antamaan heijastuneen säteilyn intensiteettiin tehtävä mittalaitteistosta johtuvia korjauksia.

Kidemonokromaattorin kautta heijastunut säteily aiheuttaa monokromaattorikulmasta α riippuvan modifikaation Thomsonin vaikutusalaan (3.10). Ylei-



Kuva 4.1: Mittauksissa käytetyn jauhediffraktometrin pääosat: a) Röntgenputki ja -generaattori, b) monokromaattori, c) $\theta - 2\theta$ -pöytä, d) näyteteline ja näyte, e) tuikeilmaisain, f) pulssianalysaattori, g) tietokone, h) askelmoottoriohjain.

sessä muodossa polarisaatiotekijä on [27]

$$P(\theta, \alpha) = \frac{1 + K(\alpha) \cos^2(2\theta)}{1 + K(\alpha)}, \quad (4.1)$$

missä $K(\alpha)$ on monokromaattorista ja monokromaattorikulmasta α riippuva tekijä. Ideaalisesti epätaydelliselle mosaiikkikiteelle K voidaan laskea suoraan Thomsonin vaikutusalan avulla, jolloin $K(\alpha) = \cos^2(2\alpha)$. Tässä työssä käytetyn laitteiston monokromaattori oli lähempänä täydellistä kidettä, jolloin $K(\alpha) = \cos(2\alpha)$.

Symmetrisessä läpäisygeometriassa (kuva 4.2) näytteen absorptiosta johtuva korjaus on helppo tehdä. Näytteen säteilytetyllä tilavuudella V on sirontakulmaan nähden verrannollisuus $V \propto 1/\cos(\theta)$. Jokainen näytteestä sironnut foton kulkee näytteen sisällä matkan $T/\cos(\theta)$. Näytteen mitattu absorptio $\exp(-\mu T)$ huomioon ottaen saadaan absorptiotekijäksi

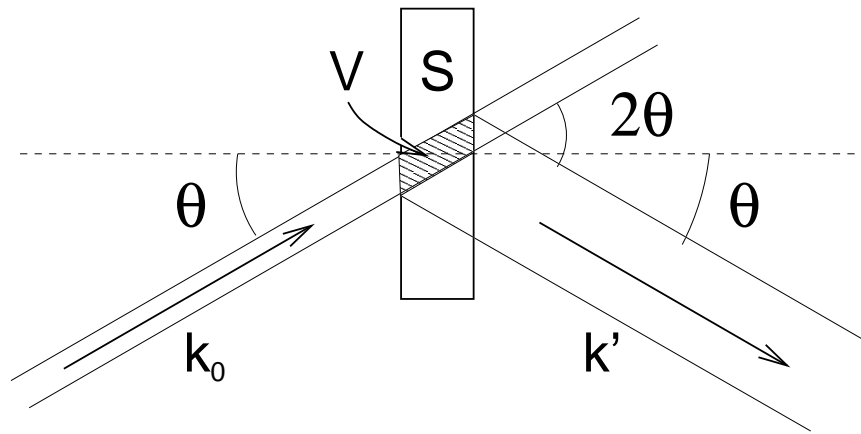
$$A(\theta, \mu T) = \frac{\exp(-\mu T / \cos(\theta))}{\cos(\theta)}. \quad (4.2)$$

Kolmas intensiteettiin vaikuttava tekijä on puhdaasti geometrinen. Satunnaisesti orientoituneesta jauhenäytteestä säteily siroaa keiloina, josta ilmaisain havaitsee aina yhtä korkean segmentin. Havaitun säteilyn kokonaismäärä on verrannollinen säteilykartion pohjan säteeseen ilmaisimen kohdalla, geometrinen korjaus on siis muotoa

$$G(\theta) = \frac{1}{\sin(2\theta)}. \quad (4.3)$$

Havaitun diffraktiomaksimin intensiteetti on laitteistotekijät, lämpötilatekijän (3.47) ja rakennetekijän (3.46) yhdistävä

$$I_{\{hkl\}}(\theta; \alpha, \mu T, \lambda) = P(\theta, \alpha) A(\theta, \mu T) G(\theta) T(q) |F_{\{hkl\}}(q)|^2, \quad (4.4)$$



Kuva 4.2: Symmetrinen läpäisygeometria. Symbolit: S näyte, V säteilytetty tilavuus, k_0 tuleva säteily, k' sironnut säteily, θ sirontakulma.

missä sirontavektorin pituus q on θ :n ja λ :n funktio (3.15). Sirontakulmaa θ lukuunottamatta muut intensiteettiin vaikuttavat suureet ovat mittauksen aikana vakioita.

Tuloksia käsiteltäessä huomattiin diffraktiomittauksista määritetyn tarkkelyksen heksagonaalisen kidekopin hilavakion a olevan systemaattisesti pienempi kuin tarkemmista pienkulmasirontamittauksista määritetty. Syyksi todettiin se, että näytteen keskipiste ei ollut $\theta - 2\theta$ -pöydän kiertoakselin kohdalla, vaan kiertoakseli kulki heijastusgeometrian vaatimusten mukaisesti näytteen reunan kautta.

Edelleen läpäisy- ja heijastusgeometrialla mitattuja näytteitä vertailtaessa havaittiin, että heijastusgeometrialla tehdyistä mittauksista määritetty hilavakio a oli 0.2 \AA pienempi kuin läpäisygeometrialla tehdyistä mittauksista määritetty. Vastaavasti hilavakio c oli 0.1 \AA pienempi. Heijastusgeometrialla saadut tulokset vastasivat pienkulmasironnalla määritettyjä arvoja, joten ilmoitettuihin läpäisygeometrialla saatuihin tuloksiin on tehty yllä mainitun suuruiset korjaukset.

Diffraktiopiikin leveyteen ja muotoon vaikuttavia tekijöitä voidaan kuvata laitteistosta riippuvilla integraalimuunnoksilla. Tässä työssä piikin muotoa ei mallinnettu, vaan heijastusten intensiteetin leviämistä kuvattiin Gaussin funktiolla, jonka leveys oli jokaiselle heijastukselle sama. Tarkemmin asiasta data-analyysiä käsittelevässä luvussa 5.

4.1.3 Mittaukset

Diffraktiomittausten päämääränä oli selvittää kiteisen tärkkelyksen, amorfisen tärkkelyksen ja veden suhteelliset osuudet näytteissä ja saada arvio kiteisen tärkkelyksen hilavakioille. Varastoinnin vaikutusta perunan tärkkelykseen tutkittiin mittaamalla kolmen suomalaisen perunalajikkeen diffraktiokuviot kuukausittain vuoden ajan.

Jokainen kontrolliparametreissaan (varastointiaika, lajike) eroava näyte pyrittiin mittaamaan kahteen kertaan. Toinen näytteistä oli kokonainen, noin 2 mm paksu, raa'an perunan pinnasta, kuoren alta leikattu noin 1.5 cm halkaisijaltaan oleva pyöreä siivu. Toinen näyte valmistettiin soseuttamalla paloja useista samaan näyte-erään kuuluvista perunoista morttelilla. Soseesta valmistettiin kiinteän näytteen kaltainen noin 2 mm paksu ja 1.5 cm halkaisijaltaan oleva levy kevyesti puristamalla. Näytteet suojattiin kuivumiselta kumaltakin puolelta mylar-kalvolla, jonka paksuus oli 6 μm .

Mittaustulosten käsittely perustui malliaineiden diffraktiokuvioiden lineaarikombinaation sovittamiseen näytteestä mitattuun kuvioon. Malliaineista amorfisen tärkkelyksen ja veden diffraktiokuviot mitattiin ja kiteisen tärkkelyksen diffraktiokuvio laskettiin kirjallisuudessa esitetyn amylopektiinin kiderakenteen perusteella [1]. Lisäksi mitattiin tyhjä näyteteline, eli ilman sironta. Tarkempi esitys tulosten käsittelystä on seuraavassa luvussa.

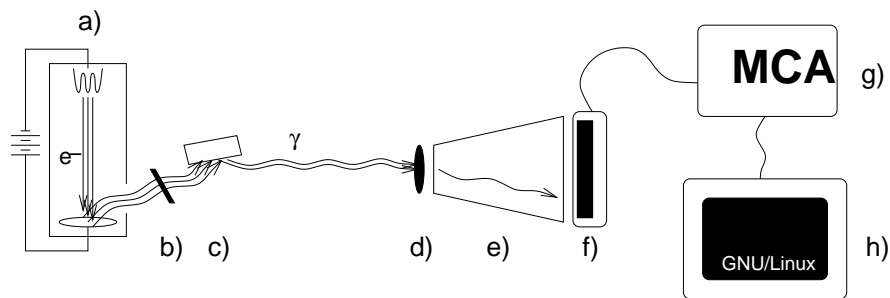
Ennen diffraktiokuvion mittausta jokaisesta näytteestä mitattiin absorptiokerroin. Monokromatisoitu röntgensäde vaimennettiin nikkelisuotimella ja säteen intensiteettiä mitattiin sekä näytteen kanssa että ilman. Mittaus tehtiin tasavälisellä kulma-asteikolla välillä $-0.8 \dots 0.8 \text{ } 2\theta$. Mittaupisteitä oli 320 ja jokaista pistettä mitattiin sekunnin ajan. Absorptiokerroin saatiin summattujen intensiteettien suhteesta.

Diffraktiomittaukset tehtiin kulmavälillä $3 \dots 80 \text{ } 2\theta$ tasavälisellä asteikolla 0.1 asteen välein. Mittauspisteitä oli yhteensä 770, joista jokaista mitattiin 60 sekuntia.

4.2 Pienkulmasironta (SAXS)

4.2.1 Laitteisto

Pienkulmasironta mitattiin Röntgenfysiikan laboratorion laitteistolla (kuva 4.3). Laitteistossa kuparianodisen röntgenputken säteily monokromatisoitiin balansoiduilla suodattimilla. Matalaenerginen jarrutussäteily poistettiin nikkelisuodattimella ja K_α -säteilyä korkeaa energisempi osa spektristä (K_β ja jarrutussäteilyn loppuosa) leikattiin kokonaisuheijastavalla lasilevyllä.



Kuva 4.3: Kaavakuva mittauksissa käytetystä pienkulmasirontalaitteistosta: a) Röntgenputki, b) Ni-suodatin, c) lasipeili, d) näyte, e) tyhjiökammio, f) paikkaherkkä röntgenilmaisim, g) monikanava-analysaattori ja h) tietokone.

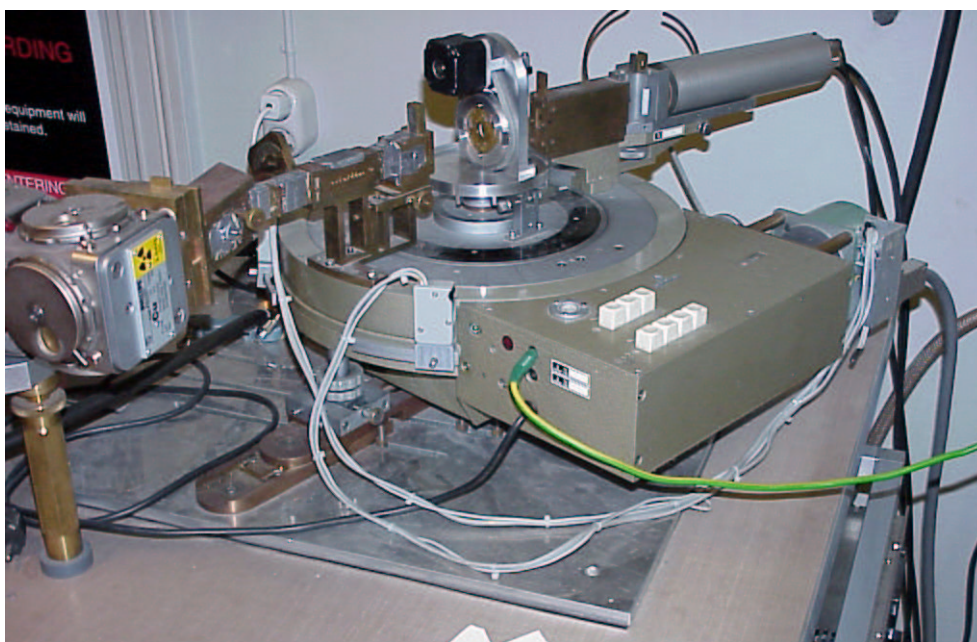
Röntgenilmaisimena käytettiin paikkaherkkää viivailmaisinta, joka on toimintaperiaatteeltaan verrannollisuuslaskuri (MBraun OED50M). Ilmaisimen signaalit johdettiin monikanava-analysaattorille, jonka paikkaresoluutio oli 1024 kanavaa. MCA-kortin ilmoittamat lukemat kanavan funktiona tallennettiin tietokoneella. Näytteen ja röntgenilmaisimen välillä oli ilman aiheuttamaa sirontaa vähentävässä tyhjiöputki.

4.2.2 Mittaukset ja laitteistokorjaukset

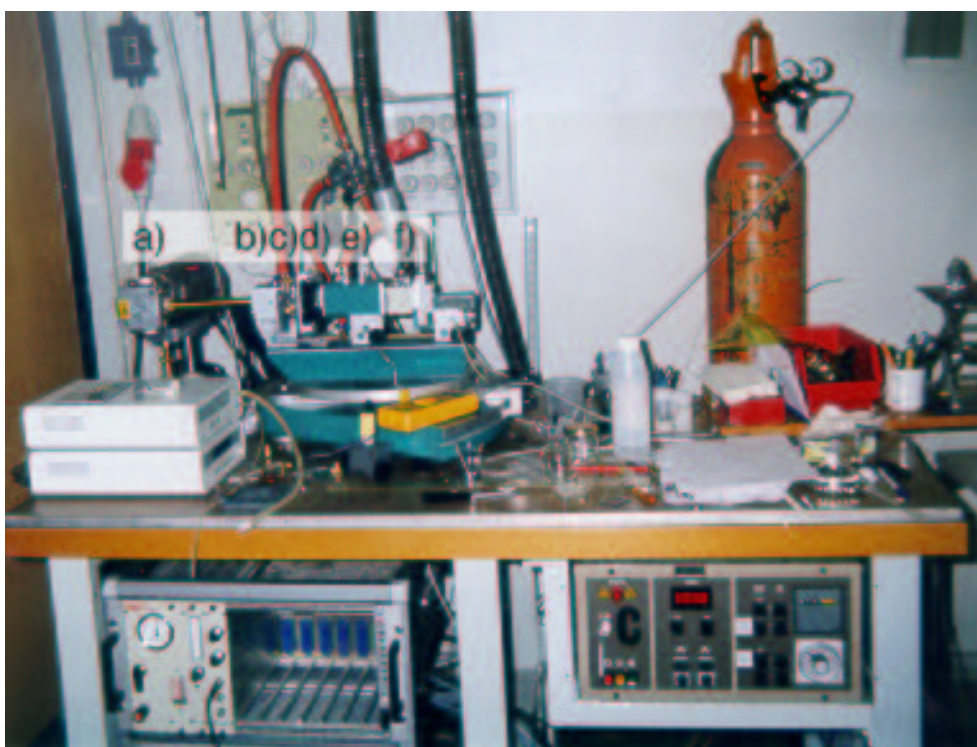
Näytteet valmistettiin samaan tapaan kuin diffraktiomittauksissa. Jokaisesta kuukausittaisesta näyte-erästä mitattiin sekä kokonainen siivu sekä useammasta perunasta valmistettu sose. Lisäksi mitattiin kertaluontoisesti hybridejä ja Hollannissa kasvatettuja tuotantolajikkeita. Käytetyllä mittauserialla (näytteen ja ilmaisimen etäisyys n. 160mm) saavutettava q -alue oli $0.025 \dots 0.60 \text{ \AA}^{-1}$. Tällä alueella näytteistä havaittiin pienillä q :n arvoilla kasvavan q :n funktiona eksponentiaalisesti laskeva pienkulmasironta ja kaksi diffraktiomaksimia, joiden Braggin etäisyydet (3.42) olivat n. 100 \AA ja 16 \AA . Suurempi etäisyys tunnistettiin mikrokiteisen tärkkelyksen lamellaarisen rakenteen aiheuttamaksi ja pienempi kiteisen tärkkelyksen (100)-heijastukseksi. Jokaisella mittauskerralla tehtiin myös taustamittaus tyhjällä näytetelineellä, joka tuloksia käsiteltäessä vähennettiin näytteestä mitatusta sironnasta.

Mittauksissa käytetyllä laitteistolla suurin laitteiston geometriasta aiheutuva virhe mitattuun sirontan intensiteettiin johtuu säteen äärellisestä korkeudesta. Säteen profiili (FWHM) mittaustasossa oli q -yksiköissä 0.04 \AA^{-1} pystysuunnassa ja 0.008 \AA^{-1} vaakasuunnassa. Mittauksissa paikkaherkkä ilmaisim mittasi sirontaa vaakasuunnassa.

Säteen pystyprofiilin jakaumafunktion ollessa $W(k)$, saadaan mitattu in-



Kuva 4.4: Helsingin yliopiston Röntgenfysiikan laboratorion jauhediffraktometri.



Kuva 4.5: Helsingin yliopiston Röntgenfysiikan laboratorion pienkulmasiron-
talaitteisto vuodelta 1999. Kuvaan on merkitty samat osat kuin kaavakuvassa
(kuva 4.3).

tensiteti $I(q)$ pistemäisen röntgensäteen aiheuttamasta ideaalisesta intensiteetistä $I_0(q)$ integraalimuunnoksella [24]

$$I(q) = \int_{-\infty}^{\infty} W(k) I_0(\sqrt{q^2 + k^2}) dk. \quad (4.5)$$

Mittauksista saadut parametrit olivat kahden diffraktiomaksimin paikka ja (100)-maksimista laskettu tärkkelyksen kidekoko. Virheen vaikutuksen parametreihin havaittiin olevan systemaattinen. Vaikutusta tutkittiin muuntamalla käytettyä mallifunktiota (Gaussin funktio) yhtälön (4.5) avulla ja sovitamalla saatu funktio dataan. Ero saatujen parametrien arvolle muunnetun ja muuntamattoman mallifunktion välillä oli pieni, (100)-heijastuksesta laskettu Braggin etäisyys muuttui käytetyllä aineistolla (kuusi eri mittausta) hyvin tarkasti 0.6% ja kidekoko 1.2% - 1.6%. Pienemmällä kulmalla sijaitsevan lamellaarisen rakenteen aiheuttaman diffraktiopiikin paikka muuntuu hieman enemmän, keskimäärin 5%. Jokaisessa tapauksessa virheet olivat systemaattisia. Lopulliset sovitukset tehtiin ilman pystyprofiilikorjausta, mutta tuloksena ilmoitettuja parametriarvoja on korjattu edellä mainitusti.

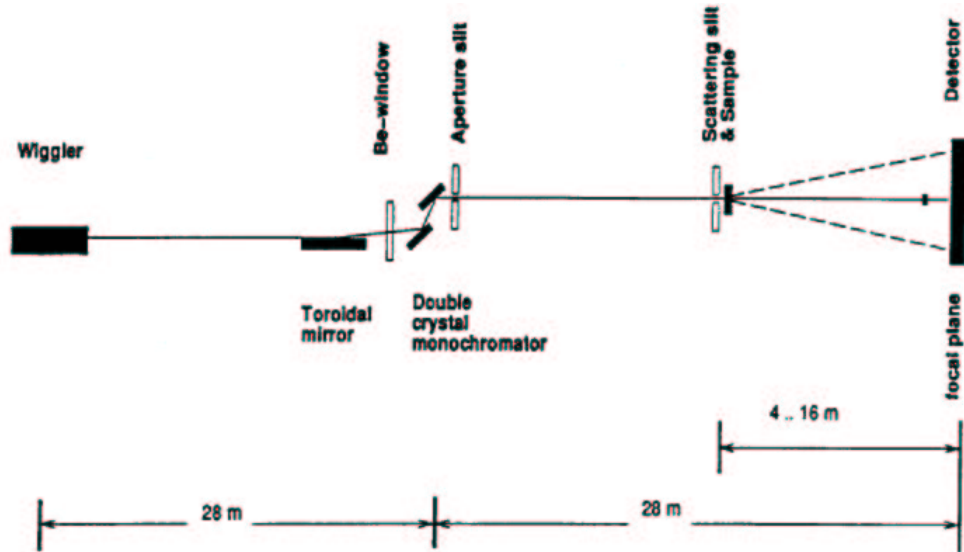
4.3 Sädelinja BW4

4.3.1 Laitteisto

Sirontamittaukset erittäin pienillä kulmilla suoritettiin Hamburger Synchrotronstrahlunglaborin (HASYLAB) USAXS (Ultra Small Angle Scattering) sädelinjalla BW4. HASYLABin varastorengas DORIS III on niin sanottu toisen sukupolven synkrotronisäteilylähde. Alunperin ydinfysiikan tutkimuksessa käytetty rengas on muutettu synkrotronisäteilylähteeksi lisäämällä renkaaseen taivutusmagneetteja ja magneettijonolähteitä.

Sädelinjalla BW4 on säteilylähteenä Wiggler-tyyppinen magneettijonolähde, jonka kriittinen energia on 13.6 keV [28]. Säde fokusoidaan pisteeksi toroidaalisella peilillä, jonka polttoväli on 56 m (kuva 4.6). Monokromaattori on säädettävä Si-(111) kaksoiskidemonokromaattori, jolla voidaan valita röntgensäteilyn energia välillä 4-10 keV. Säteen lopullinen muoto määritellään monokromaattorin jälkeen sijoitetuilla raoilla.

Säteilynlmaisimena sädelinjalla on fokustasoon sijoitettu kaksiulotteinen 512x512 pikselin verrannollisuuslaskuri (kuva 4.7). Näyte voidaan sijoittaa maksimissaan 16 m etäisyydelle ilmaisimesta. Etäisyys voidaan valita periaatteessa vapaasti, käytännössä se kuitenkin määräytyy saatavilla olevien tyhjiöputkien pituudesta (kuva 4.8). Ilmaisimen lisäksi röntgensäteen intensiteettiä



Kuva 4.6: Sädelinja BW4:n optiset elementit.

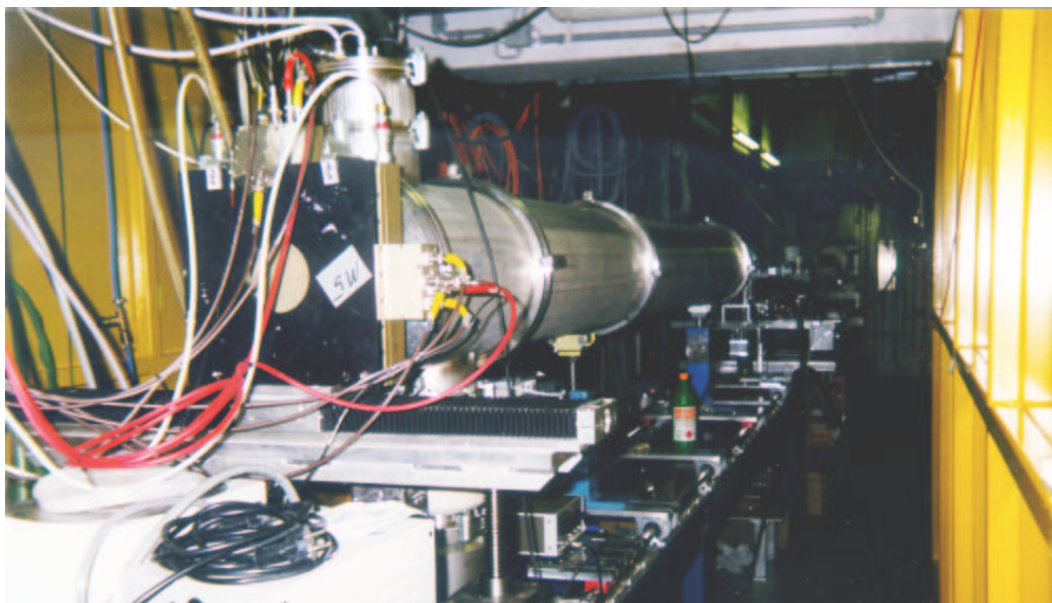
mittauksen aikana tarkkailtiin kahdella ennen ja jälkeen monokromaattoria sijaitsevalla ionisaatiokammiolla ja aivan detektorin edessä säteenpysäyttimessä olevalla PIN-diodilla.

4.3.2 Mittaukset

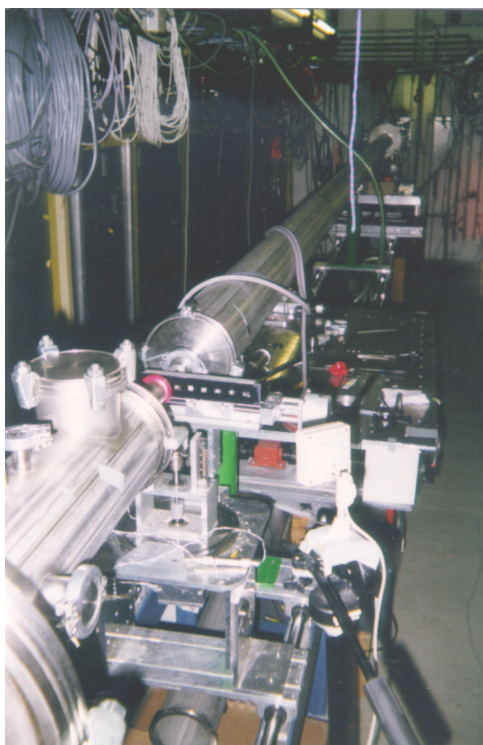
Mittauksissa käytetty röntgensäteen energia oli 8.979 keV, joka vastaa aallonpituutta 1.3808 \AA . Mittauksia tehtiin kahdella eri koejärjestelyllä, joissa näytteen ja ilmaisimen etäisyys toisistaan oli 4.423 m ja 12.42 m. Ilmaisimen aktiivisen alueen leveys oli 200 mm ja säde kohdistettiin ilmaisimen keskelle. Näillä asetuksilla saatiin käyttökelpoisia mittaustuloksia sirontavektorin pituuden q arvoilla $0.004 \dots 0.080 \text{ \AA}^{-1}$ (etäisyys 4.423 m) ja $0.0015 \dots 0.027 \text{ \AA}^{-1}$ (etäisyys 12.42 m).

Näytteet olivat perunoiden pinnasta, kuoren alta leikattuja noin 1.5 mm paksuja siivuja. Kuivumisen estämiseksi näytteet suljettiin kahden mylar-kalvon väliin. Jokaista näytettä mitattiin neljä kertaa 60 s.

Eri lajikkeista tehtyjen mittausten lisäksi tutkittiin veden ja kuivumisen vaikutusta näytteen rakenteeseen. Satu-lajikkeesta otettua näytettä seurattiin yhteensä kahden ja puolen tunnin ajan, jona aikana näytteen rakenteessa havaittiin tapahtuvan merkittäviä muutoksia. Näytettä ei ollut suljettu mylar-kalvojen väliin, jolloin neste pääsi vapaasti haihtumaan. Myös muita lajikkeita tutkittiin, mutta lyhyemmällä kuivumisajalla. Tuloksia tarkasteltaessa todettiin muilla lajikkeilla käytetyn mittaussajan olleen liian lyhyen, merkittäviä muutoksia mikroskooppiseen rakenteeseen ei ehtinyt syntyä.



Kuva 4.7: Kaksiulotteinen röntgenilmaisinsädelinjalla BW4.



Kuva 4.8: Vasemmalla: Näyteteline sädelinjalla BW4. Oikealla: Kirjoittaja valmistelemassa näytteitä mittausta varten.

Geometrisia laitteistokorjauksia ei pistekollimaation takia tehty. Mittaus-
tulokset normalisoitiin sädelinjan henkilökunnan mittaamalla ilmaisimen herk-
kyydellä ja näytteestä mitatusta sironnasta vähennettiin erikseen mitattu taus-
ta, joka skaalattiin näytteen sirontaan verrannolliseksi säteenpysäyttimestä
mitatun integroidun intensiteetin perusteella. Tulosten käsittelyä ja mallien
sovitusta varten mittalaitteesta saatu ϕ -kulman suhteen isotrooppinen kaksiu-
lotteinen sirontakuvio integroitiin, jolloin saatiin tavanomainen I vs. q -käyrä.

Luku 5

Data-analyysi

Chance is the only source of true novelty.

Francis Crick

5.1 Perusteet

5.1.1 Todennäköisyydestä

Fysikaalisen suureen mittaaminen on aina epätäydellinen prosessi, jonka tulos ei ole koskaan tarkka. Epävarmuus johtaa todennäköisyyden käsitteen käyttöön. Suureesta kokeellisesta saatava informaatio on sen arvon todennäköisyysjakauma. Erityisesti tämä on selvää röntgensäteilyä käyttävissä mittauksissa, joissa pystytään mittaamaan yksittäisiä valon kvantteja. Kvanttimekaniikan mukaan näytteestä sironneen röntgenfotonin havaittu paikka ilmaisimessa on aidosti satunnainen. Teoria voi ennustaa useiden samalla lailla sironneiden fotonien paikkajakauman, mutta yksittäisestä tapahtumasta se ei sano mitään varmaa.

Kokeellisen informaation ollessa tilastollista ovat myös mittauksista tehty johtopäätökset epävarmoja. Mittauksen tulos on todennäköisyys sille, että esitetty *hypoteesi* on oikea. Todennäköisyysteoriassa annetun mallin verifiointia kokeellisen datan perusteella kutsutaan *hypoteesin testaamiseksi*. Jos hypoteesia merkitään symbolilla X , niin tavoitteena on löytää todennäköisyys $P(X|Y, I)$ sille, että hypoteesi on totta. Tässä merkinnässä pystyviivan oikealla puolella olevat symbolit ovat ilmiöstä kertovia seikkoja. Symboli Y kuvaa mittauksista peräisin olevaa dataa ja I muuta ilmiöstä saatavilla olevaa *a priori* informaatiota. Merkintä voidaan lukea: "Todennäköisyys sille, että X on tosi, kun tiedetään Y ja I ."

Todennäköisyys P on kuvaus hypoteeseiltä H reaalilukuvälille $[0, 1]$, missä 0 on mahdottomuus ja 1 täydellinen varmuus. Funktiolta P voidaan vaatia

joitain yleisiä ominaisuuksia jotka kaikkien todennäköisyysfunktioiden on toteutettava. Tarkempaan todennäköisyyden perusteiden esittämiseen ei tässä ole syytä ryhtyä, mutta vaatimalla todennäköisyyksien avulla tehtävien päätelmien ristiriidattomuutta [29], voidaan osoittaa, että niiden täytyy toteuttaa seuraavat aksioomat:

$$P(X|I) + P(\bar{X}|I) = 1 \quad (5.1)$$

$$P(X, Y|I) = P(X|Y, I)P(Y|I). \quad (5.2)$$

Merkintä \bar{X} tarkoittaa lauseen X negaatiota: “ X ei ole tosi.” Aksiooma 5.1 tarkoittaa yksinkertaisesti sitä, että mikä tahansa lause X on varmasti joko tosi tai epätosi. Aksiooman 5.2 vasemman puolen merkintä tarkoittaa todennäköisyyttä sille, että X ja Y ovat molemmat tosia.

Konjunktio “ja” on symmetrinen argumenttiensa suhteen, joten vaihtamalla aksioomassa 5.2 lauseiden X ja Y paikkaa ja merkitsemällä oikeat puolet yhtäsuuriksi saadaan *Bayesin*¹ lause

$$P(X|Y, I) = \frac{P(Y|X, I)P(X|I)}{P(Y|I)}. \quad (5.3)$$

Bayesin lause on data-analyysin perustyökalu. Sen hyödyllisyys on helppo nähdä, kun symboleille X, Y ja I annetaan data-analyysissä yleisesti käytetty tulkinta. Hypoteesia tai testattavaa mallia merkitään edelleen X :llä, mitattua dataa merkitään Y :llä ja ennen mittausta ilmiöstä tiedettyjä todennäköisyyteen vaikuttavia seikkoja I :llä.

Nähdään, että hypoteesin X todennäköisyys annetulla datalla Y riippuu kolmesta todennäköisyydestä. Osoittajan ensimmäinen tekijä $P(Y|X, I)$ on *uskottavuusfunktio* (eng. likelihood function), se on todennäköisyys sille, että data sopii annettuun hypoteesiin. Uskottavuusfunktio pystytään yleensä laskemaan datasta ainakin periaatteessa.

Toinen tekijä $P(X|I)$ on hypoteesin *prioritodennäköisyys*. Esimerkiksi diffraktiopiikkiä voidaan kuvata Gaussin funktiolla $A \exp(-x^2/2\sigma^2)$. Diffraktiopiikki on aina positiivinen taustaan nähden, joten mallina käytetyn Gaussin funktion korkeus A ei voi olla negatiivinen. Negatiivisen diffraktiopiikin sisältävän hypoteesin *prioritodennäköisyys* ja samalla yhtälön (5.3) vasemmalta puolella esiintyvä *posterioritodennäköisyys* on nolla.

Bayesin lauseen nimittäjässä oleva tekijä $P(Y|I)$ on *prioritodennäköisyys* sille, että saadaan mitattu data. Tähän ei tavallisesti oteta kantaa [30], joten Bayesin lause muuttuu yhtälöstä verrannollisuudeksi

$$P(X|Y, I) \propto P(Y|X, I)P(X|I). \quad (5.4)$$

¹Thomas Bayes 1701? - 1761, Englantilainen presbyteripappi ja tiedemies.

Toinen aksioomista seuraava hyödyllinen lause saadaan vaihtamalla (5.2):ssa toinen argumentti komplementtikseen:

$$\begin{aligned} P(X, Y|I) &= P(Y, X|I) = P(Y|X, I)P(X|I) \\ P(X, \bar{Y}|I) &= P(\bar{Y}|X, I)P(X|I) \end{aligned}$$

Laskemalla yhtälöt yhteen saadaan

$$P(X, Y|I) + P(X, \bar{Y}|I) = [P(Y|X, I) + P(\bar{Y}|X, I)]P(X|I) = P(X|I). \quad (5.5)$$

Viimeinen askel seuraa suoraan ensimmäisestä aksioomasta (5.1). Jos Y :n mahdolliset arvot koostuvat diskreetistä joukosta toisensa poissulkevia väittämiä Y_i , saadaan lausetta (5.5) rekursiivisesti käyttäen *marginalisaatiolause*

$$P(X|I) = \sum_i P(X, Y_i|I). \quad (5.6)$$

Usein käsitellään hypoteesijoukkoa, joka on jatkuva siinä mielessä, että se voidaan parametrisoida vaikkapa reaaliluvuilla. Esimerkkinä tällaisesta on todennäköisyys sille, että skalaarisuureen mittauksesta saadaan tietty arvo. Jatkuvien suureiden pistetodennäköisyys on kuitenkin nolla jo normalisoinnin takia, joten tähän asti käsitelty teoria selvästikin kaipaa laajennusta. Ongelmasta päästään määrittelemällä kaksi uutta käsitettä, *satunnaismuuttuja* ja *todennäköisyystiheys*.

Jos hypoteesiksi Y valitaan väittämä " Z on välillä $[a, b]$ ", missä Z on satunnaismuuttuja, niin hypoteesin todennäköisyys saadaan satunnaismuuttujan tiheysfunktion $p(z)$ avulla:

$$P(Y) = \int_a^b p(z)dz. \quad (5.7)$$

Tällaisessa tapauksessa marginalisointilauseen yleistys on

$$P(X|I) = \int p(X, z|I)dz, \quad (5.8)$$

missä todennäköisyystiheyteen p on nyt otettu mukaan myös hypoteesi X . Integrointi suoritetaan koko reaaliakselin yli.

Marginalisointi on hyödyllinen työkalu käsiteltäessä ylimääräisiä parametrejä sisältäviä malleja. Ylimääräiset parametrit voivat olla esimerkiksi normalisointivakioita tai muista vastaavia suureita, joiden arvosta ei olla kiinnostuneita.

5.1.2 Mallintaminen

Sirontakokeissa mitattu data on säteilyn intensiteetti jonkun kontrollimuuttujan, tyypillisesti kulman tai energian funktiona. Nykyisillä säteilynilmaisilla

pystytään havaitsemaan yksittäiset fotonit, jolloin mittauksen tulos on pulssilaskurin näyttämä havaittujen fotonien lukumäärä tietyllä kulman tai energian arvolla. Jos mitattavan säteilylähteen intensiteetti on vakio, noudattaa ilmaisimeen kiinteällä aikavälillä osuvien fotonien lukumäärä n Poissonin jakaumaa [31]

$$P_P(n|\lambda) = e^{-\lambda} \frac{\lambda^n}{n!}. \quad (5.9)$$

Voidaan osoittaa, että jakauman parametri λ on satunnaismuuttujan n odotusarvo $E(n) = \lambda$ ja samalla sen varianssi $\text{var}(n) = \sigma^2 = \lambda$. Odotusarvon kasvessa suureksi ($\lambda > 20$) Poissonin jakaumaa voidaan approksimoida suurella tarkkuudella normaalijakauman tiheysfunktion

$$p_N(x|\mu, \sigma^2) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} \quad (5.10)$$

avulla. Yllä esitetyn normaalijakauman odotusarvo on $E(x) = \mu$, ja sen varianssi on σ^2 . Poissonin jakaumaa approksimoidaan nyt

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P_P(n|\lambda) \rightarrow \int_{n-1/2}^{n+1/2} p_N(x|\lambda, \lambda) dx \approx p_N(n|\lambda, \lambda) \Delta x \equiv p_N(n|\lambda). \quad (5.11)$$

Yhden mittauspisteen tapauksessa on siis selvitettävä pulssilaskurin lukeman avulla λ :n todennäköisin arvo. Tämä voidaan tehdä maksimoimalla todennäköisyys $P(\lambda|n, I)$. Bayesin teoreeman (5.4) avulla saadaan:

$$P(\lambda|n, I) \propto P(n|\lambda, I)P(\lambda|I), \quad (5.12)$$

missä uskottavuusfunktio $P(n|\lambda, I)$ on joko Poisson- tai normaalijakauma ja priorissa $P(\lambda|I)$ vaaditaan, että λ on positiivinen. Jos n on riittävän suuri, voidaan huoletta käyttää normaalijakaumaa, jolloin todennäköisyyden 5.12 maksimoi $\lambda = n$ (tämä pätee suurella tarkkuudella myös Poisson-jakaumalle, muttei eksaktisti).

Tavallisessa sirontamittauksessa saadaan pulssien lukumäärä useilla eri kanavilla, jotka vastaavat kontrollimuuttujan eri arvoja. Jos kokeessa on mitattu k kanavaa ja saatu eri kanaville pulssimäärät n_1, n_2, \dots, n_k , niin todennäköisyys saada uudesta identtisestä kokeesta arvot m_1, m_2, \dots, m_k on

$$P(m_1, m_2, \dots, m_k | n_1, n_2, \dots, n_k, I) = \prod_{i=1}^k p_N(n_i | m_i, I), \quad (5.13)$$

Yhtälön (5.13) johdossa on käytetty rekursiivisesti aksioomaa (5.2) ja oletettu lisäksi, että $P(m_i | n_1, n_2, \dots, n_k, I) = P(m_i | n_i, I)$, eli eri kanavien todennäköisyysjakaumat ovat *riippumattomia*. Lisäksi on oletettu, että n_i :t ovat tarpeeksi suuria, jotta voidaan käyttää normaalijakaumaa.

Mitattavan näytteen sirontaa voidaan kuvata mallilla $f(q; \mathbf{a})$, josta voidaan laskea eri kanaviin tulevat pulssimäärät:

$$n_i = f_i \equiv f(q_i; \mathbf{a}). \quad (5.14)$$

Tässä q_i on kanavaa i vastaava kontrollimuuttujan arvo ja vektori \mathbf{a} sisältää käytetyn mallin parametrit. Fysiikassa ilmiötä kuvaava malli on tyypillisesti analyttinen funktio, jonka parametrien todennäköisimmät arvot ja niiden jakauma pyritään selvittämään kokeen perusteella. Annetun mallin parametrien määrittämistä kutsutaan tilastotieteessä parametrien estimoinniksi.

Bayesin teoreeman ja aksiooman 5.2 avulla saadaan parametrien \mathbf{a} todennäköisyysjakaumalle yhtälö

$$p(\mathbf{a}|\{n\}, f, I) = \frac{P(\{n\}|f, \mathbf{a}, I)p(f|\mathbf{a}, I)p(\mathbf{a}|I)}{P(\{n\}|f, I)p(f|I)}, \quad (5.15)$$

missä $\{n\}$ merkitsee mitattuja pulssimääriä. Oletetaan, että käytetyn mallin yleinen sopivus datan kuvaamiseen ei riipu valituista parametreista ja että mitattu data ei riipu valitusta mallista tai etukäteistiedosta I , jolloin todennäköisyys $P(f|\mathbf{a}, I)$ ja todennäköisyys $P(\{n\}|f, I)$ voidaan asettaa vakioiksi. Todennäköisyys $p(f|I)$ kuvaa mallin pätevyyttä *a priori* -tiedon perusteella. Eri mallien hyvyttä vertailtaessa sen arvo on merkittävä, mutta yhden mallin tapauksessa se on vain mielivaltainen vakio². Näillä yksinkertaistuksilla saadaan parametrien todennäköisyysjakaumalle verrannollisuus

$$p(\mathbf{a}|\{n\}, f, I) \propto P(\{n\}|f, \mathbf{a}, I)p(\mathbf{a}|I). \quad (5.16)$$

Useissa tapauksissa voidaan tehdä yhtälön 5.13 tapaan oletus, että mittauspisteet $\{n\}$ ovat normaalijakautuneita. Jos tämän lisäksi myös parametrien priorijakaumasta $p(\mathbf{a}|I)$ ei pystytä sanomaan mitään ja se asetetaan tasaiseksi saadaan

$$p(\mathbf{a}|\{n\}, \{\sigma\}, f, I) \propto \prod_{i=1}^k \exp\left(-\frac{(n_i - f(q_i; \mathbf{a}))^2}{2\sigma_i^2}\right) = \exp\left(-\frac{1}{2} \sum_{i=1}^k \frac{(n_i - f(q_i; \mathbf{a}))^2}{\sigma_i^2}\right), \quad (5.17)$$

missä on merkitty eksplisiittisesti mittaustulosten hajonnat $\{\sigma\}$, jotka joko riippuvat suoraan mittaustuloksista $\{n\}$ tai oletetaan muuten tunnetuiksi. Edellisestä yhtälöstä huomataan, että todennäköisyys maksimoituu, kun yhtälön oikean puolen eksponenttifunktion argumenttina oleva summa mini-

²Bayesilaisen tilastotieteen ongelmana on objektiivinen prioritodennäköisyyksien määrittäminen. Teoreettisesti vankimmalla pohjalla näyttävät olevan joko maksimientropiaan [30] tai minimikuvauspiteuteen [32] perustuvat menetelmät.

moituu. Tämä summa on data-analyysissä tärkeä suure χ^2 , joka siis määritellään

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(n_i - f(q_i; \mathbf{a}))^2}{\sigma_i^2}. \quad (5.18)$$

Yhtälön (5.18) käyttöön ja χ^2 :n minimointiin perustuva data-analyysi tunnetaan yleisesti nimellä *pienimmän neliösumman menetelmä*.

5.1.3 Virheanalyysi

Olettaen, että malli f kuvaa dataa tarpeeksi hyvin, saadaan parametrien \mathbf{a} todennäköisimmät arvot maksimoimalla funktio (5.16). Suurimman todennäköisyyden tuottavat parametrit eivät kuitenkaan ole yksinään kovin hyödyllisiä, sillä lähes saman todennäköisyyden voi tuottaa suuri joukko eri parametriavaruuden pisteitä. Jos mittauksen tuloksena ilmoitetaan vain suurimman todennäköisyyden tuottavat parametrit, ei tämän joukon koosta tiedetä mitään.

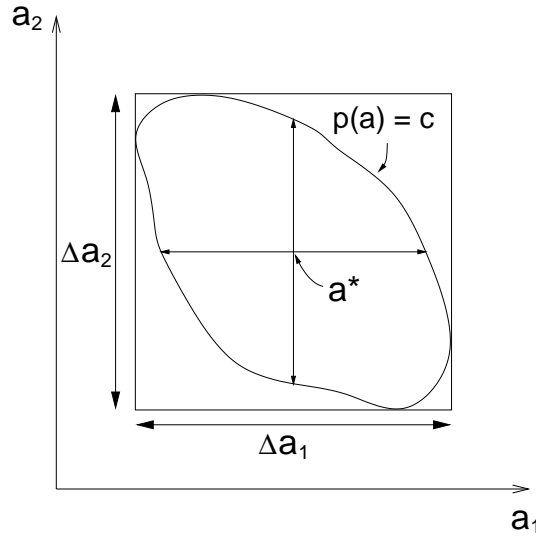
Jos tiheysfunktiolla on vain yksi parametri, voidaan tulos ilmoittaa numeerisesti antamalla jakauman huippu ja huipun sisältävä väli, joka kattaa halutun osuuden jakauman pinta-alasta. Tavallisesti ilmoitetaan väli, joka sisältää 95% jakauman todennäköisyystiheydestä, jolloin normaalijakauman tapauksessa tulos on muotoa $\mu \pm 2\sigma$. Jos annettu jakauma on epäsymmetrinen, voidaan ilmoittaa ylä- ja alarajat erikseen.

Tiheysfunktion ollessa useamman parametrin funktio on tuloksen esittäminen edellä mainitussa yksinkertaisessa muodossa hieman vaikeampaa. Epävarmuus on edelleen se parametriavaruuden alue, joka kattaa 95% todennäköisyystiheydestä maksimin ympäristössä, mutta alueen muoto ei ole yksikäsitteinen mielivaltaiselle moniulotteiselle tiheysfunktiolle. On tietenkin mielekästä pyrkiä pitämään epävarmuusalue mahdollisimman pienen hyperpallon rajaamana konveksina joukkona. Mielivaltaisen alueen esittäminen tarkasti muutamalla numeerisella parametrilla ei onnistu, mutta epävarmuusalueen ylärajat pystytään esittämään helposti: Moniulotteisen jakauman virherajat määrittelee se parametriavaruuden minimaalinen hyperkuutio, joka sisältää epävarmuusalueen. Kuva 5.1 selventäne asiaa.

Virherajat voidaan käytännössä laskea useallakin eri tavalla, joista seuraavassa esitetään kaksi.

Kovarianssimatriisin käyttö

Jos voidaan olettaa, että saatu todennäköisyystiheys $p(\mathbf{a})$ on yksihuippuinen ja muuten riittävän säännöllinen, voidaan jaukaumaa approksimoida Gaussi-



Kuva 5.1: Kaksiulotteisen tiheysfunktion epävarmuusaluetta vastaava tasavärvopinta $p(\mathbf{a}) = c$. Epävarmuusalueen projektiot parametriakselille määrittävät yksittäisten parametrien a_1 ja a_2 virherajat Δa_1 ja Δa_2 .

sella funktiolla. Kehittämällä ehdot täyttävän funktion $p(\mathbf{a})$ luonnollinen logaritmi Taylorin sarjaksi maksimin \mathbf{a}^* ympäristössä toiseen kertalukuun asti saadaan

$$\ln p(\mathbf{a}) \approx \ln p(\mathbf{a}^*) + \frac{1}{2}(\mathbf{a}^* - \mathbf{a})^T \nabla^T \nabla \ln p(\mathbf{a})|_{\mathbf{a}=\mathbf{a}^*} (\mathbf{a}^* - \mathbf{a}). \quad (5.19)$$

Matriisi $\nabla^T \nabla \ln p(\mathbf{a}) \equiv H$ on funktion $\ln p(\mathbf{a})$ Hessen matriisi. Helposti nähdään, että approksimaatio on eksakti, kun jakauma p on moniulotteinen normaalijakauma, eli Gaussin funktio

$$p_N(\mathbf{a}) = \frac{(2\pi)^{N/2}}{\sqrt{\det((\boldsymbol{\sigma}^2)^{-1})}} \exp \left(-\frac{1}{2}(\mathbf{a}^* - \mathbf{a})^T (\boldsymbol{\sigma}^2)^{-1} (\mathbf{a}^* - \mathbf{a}) \right). \quad (5.20)$$

Gaussisessa approksimaatiossa Hessen matriisi on siis kovarianssimatriisin käänteismatriisi $\boldsymbol{\sigma}^2 = H^{-1}$.

Yksittäisen parametrin a_i virherajana ilmoitetaan perinteisesti kovarianssimatriisin vastaavan lävistäjäelementin neliöjuuri $\sqrt{\sigma_{ii}^2}$. Jos muuttujien keskinäinen riippuvuus on suuri, kovarianssimatriisia ei voi hyvällä omallatunnolla approksimoida lävistäjämatrisilla ja tämä tapa tuottaa liian pienet virherajat (kuva 5.1).

Vakio χ^2 -pinta

Yksi tässä työssä käytetty tapa moniparametrin mallin virherajojen määrittämiseen tunnetaan nimellä $\Delta\chi^2$ -menetelmä. Menetelmä on esitetty tarkem-

min viitteissä [33], [34] ja [35]. Tässä esitetään vain mittaustulosten käsittelyssä tarvittavat tulokset.

Menetelmässä pyritään etsimään pienimmän neliösumman sovituksen parametriavaruudesta pinta χ^2 :n (5.18) minimin ympärillä, jossa suure $\Delta(\mathbf{a}) = \chi^2(\mathbf{a}) - \chi_{\min}^2$ on vakio, jota merkitään tässä c :llä. Tämä pinta rajaa parametrien todennäköisyysjakaumasta alueen, joka sisältää jonkin osuuden todennäköisyydestä. Tavoitteena on löytää se vakio c , jonka määräämä pinta sisältää täsmälleen halutun luottamustason suuruisen osuuden todennäköisyydestä.

Jos mitatun datajoukon pisteet toteuttavat pienimmän neliösumman menetelmässä tarvittut oletukset (normaalijakautuneet mittauspisteet) ja sovitettava malli on parametriensa suhteen lineaarinen *tai* se voidaan luottamusalueen sisältävässä χ^2 :n minimin ympäristössä korvata linearisoidulla mallilla, voidaan haluttua luottamustasoa vastaava c :n arvo laskea analyttisesti.

Oletetaan, että dataan sovitetaan mallia, jossa on m parametriä a_1, a_2, \dots, a_m . Näistä parametreistä ensimmäiset p kappaletta ovat kiinnostavia. Merkitään tätä parametrijoukkoa a_1, \dots, a_p symbolilla Φ . Loppuja epäkiinnostavia parametrejä (esimerkiksi normalisointivakioita ym.) a_{p+1}, \dots, a_m merkitään Ψ :llä. Voidaan osoittaa, että erotus Δ noudattaa χ_p^2 -jakaumaa³, kun se lasketaan pisteessä, jonka määräävät i) annetut kiinnostavat parametrit Φ ja ii) ne epäkiinnostavien parametrien Ψ arvot, jotka tuottavat pienimmän χ^2 :n dataan sovitettaessa. Siis:

$$\Delta(\Phi) = \min_{\Psi} (\chi^2(\Phi, \Psi) - \chi_{\min}^2). \quad (5.21)$$

Halutulla luottamustasolla α saadaan oikea vakion c arvo χ_p^2 -jakauman kertymäfunktion

$$P_{\chi^2}(x < c|p) = \int_0^c p_{\chi^2}(x|p)dx = \frac{1}{2^{p/2}\Gamma(p/2)} \int_0^c x^{(p-2)/2} e^{-x/2} dx \quad (5.22)$$

avulla. Etsitty vakio c on se kertymäfunktion argumentin arvo, joka tuottaa halutun luottamustason α suuruisen todennäköisyyden. Se saadaan ratkaistua yhtälöstä

$$P_{\chi^2}(x < c|p) = \alpha. \quad (5.23)$$

Yksittäisen parametrin a_i ($1 \leq i \leq p$) virheraja ilmoitetaan c :n määräämän alueen projektiona parametriavaruuden akselille a_i . Parametrin todennäköisen arvon ylärajaksi a_i^+ saadaan arvo rajoitetusta optimointitehtävästä

$$a_i^+ = \max_{a_i} a_i, \text{ kun } \Delta(\Phi) = c. \quad (5.24)$$

³ Jakaumaa χ_p^2 noudattava satunnaisluku on määritelty summana johon kuuluu p kappaletta odotusarvolla nolla ja varianssilla yksi jakautuneen normaalijakautunueen (5.10) luvun neliötä.

Alaraja a_i^- saadaan kun korvataan edellisessä yhtälössä maksimointi minimoinnilla.

Jos edellämainitut ehdot vakion c analyyttiseen ratkaisemiseen eivät täyty, voidaan menetelmää silti käyttää. Vakio $\Delta = c$ on vain etsittävä kyseiselle mallille jollain muulla tapaa, esimerkiksi simuloimalla riittävä määrä synteettisiä koetuloksia sopivalla Monte Carlo -menetelmällä ja tarkastelemalla kuinka suuri osuus simuloiduista datoista arvioituista parametreista osuu annettuun Δ :n tasa-arvopintaan. Tässä työssä näin on tehty pienkulmasiron-tatulosten analysoinnissa.

Tasa-arvopintamenetelmän hyvinä puolina voidaan mainita moniulotteisen epämääräisyysalueen muodon automaattinen määräytyminen (yleisesti-
hän tietyn todennäköisyyden sisältävä alue parametriavaruudesta voidaan valita mielivaltaisesti) ja se, että kiinnostavien parametrien epävarmuuksille saadaan absoluuttinen yläraja, jos globaali optimointi (5.24) onnistuu.

Huonoina puolina menetelmässä on sen tarvitsema laskennallisesti varsin työläs optimointi. Erittäin epälineaaristen mallien tapauksessa joudutaan vakio Δ etsimään Monte Carlo -menetelmillä, joista tavallisesti saadaan haluttu virherajat suoraan riittävällä tarkkuudella.

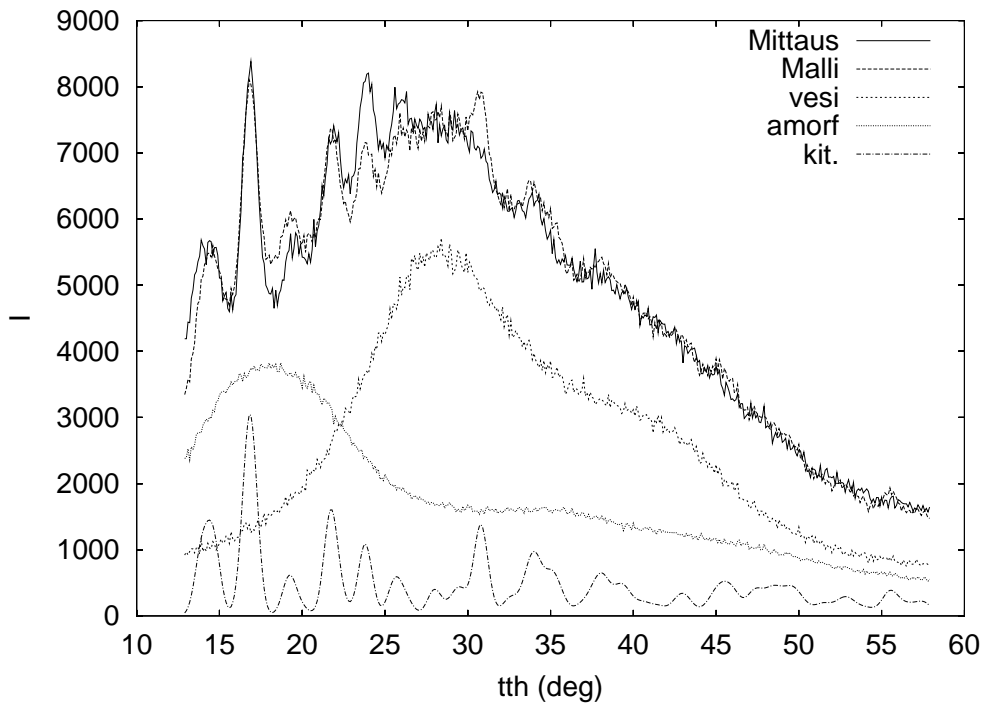
5.2 Käytetyt mallit ja parametrit

5.2.1 Laajakulmasironta

Laajakulmasirontamittausten tavoitteena oli saada selville perunan sisältämäs-tä tärkkelyksestä kiteisen ja amorfisen tärkkelyksen suhteelliset osuudet ja ki-teisen tärkkelyksen hilavakiot.

Mitattua sirontakuviota mallinnettiin kolmen komponentin lineaarikom-binaationa. Käytetyt mallit olivat veden, amorfisen tärkkelyksen ja kiteisen tärkkelyksen sirontakuviot, joista kaksi ensimmäistä määritettiin kokeellisesti mittaamalla vastaavat puhtasaineet. Malliaineet ja varsinaiset näytteet mitat-tiin samalla tavalla, kaikille mittaustuloksille tehtiin absorptiokorjaus ja niistä vähennettiin erikseen mitattu ilman sironta.

Kiteisen tärkkelyksen sirontakuviota laskettiin kappaleessa 3 esitetyllä taval-la. Atomien sijainti kiteisen tärkkelyksen heksagonaalisessa yksikkökopissa saatiin sen kirjallisuudessa esitetystä kiderakenteesta [1]. Koordinaatit syötet-tiin Powdercell-ohjelmaan [36], joka laskee kulmavälille $3 - 58^\circ 2\theta$ osuvien heijas-tusten hkl -arvot ja niitä vastaavat rakennetekijät (3.46). Näistä muodostettiin malli mitatun intensiteetin kiteisen tärkkelyksen osuudelle seuraavasti: Jokai-sen hkl -heijastuksen paikka 2θ -asteikolla laskettiin käytetyn röntgensäteilyn aallonpituuden λ ja hilavakioiden a ja c funktiona yhtälöiden (3.45) ja (3.15)



Kuva 5.2: Laajakulmasirontamittaus, malli ja mallin osat sovitusalueella

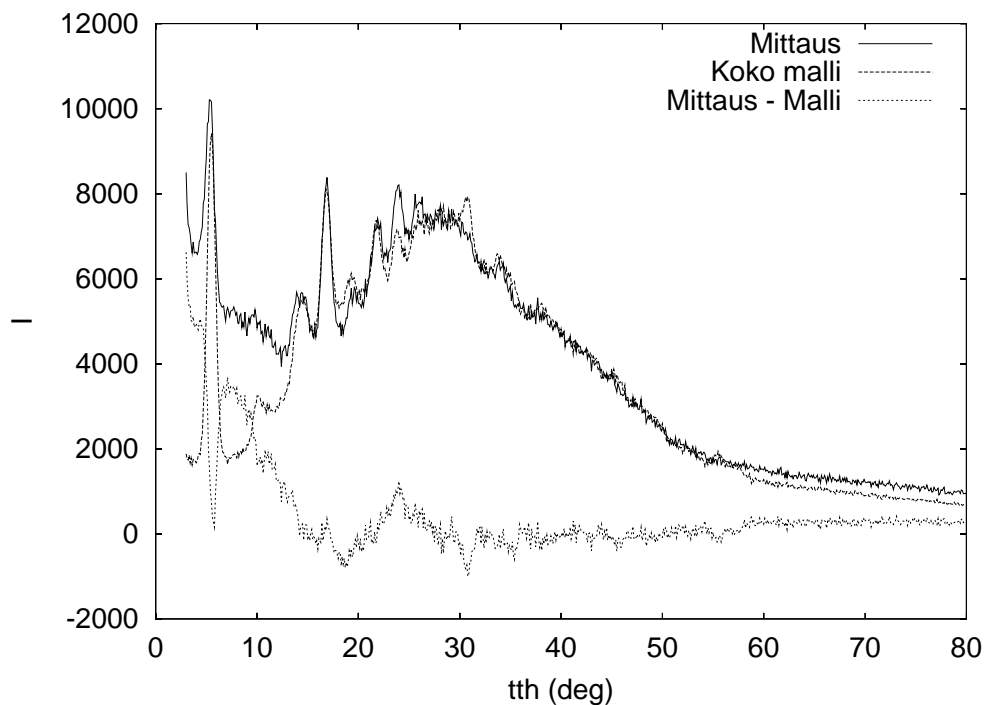
avulla. Diffraktioviivan intensiteetti laskettiin yhtälön (4.4) avulla. Äärellisen kidekoon ja laitteiston aiheuttama viivan leveneminen otettiin huomioon kuvaamalla jokaista heijastusta Gaussin funktiolla, jossa jokaisen viivan leveys σ oli sama. Säteilyn aallonpituuden ollessa vakio (Kuparin K_α -säteilylle noin 1.54 \AA) saatiin malli, jossa oli kolme epälineaarista parametria, hilavakiot a , c ja viivanleveys σ .

Koko mitattua sironnan intensiteettia kuvasi malli, jonka parametreinä olivat edellä mainitut kolme epälineaarista parametria ja kolme lineaarista mallien suhteellista osuutta painottavaa parametria b_i :

$$I_{\text{Malli}}(a, c, \sigma, \mathbf{b}) = b_1 f_{\text{Kide}}(a, c, \sigma) + b_2 I_{\text{Amorf.}} + b_3 I_{\text{Vesi.}} \quad (5.25)$$

Malli sovitettiin kuhunkin mitattuun intensiteettiin välille $13 - 58 \text{ } 2\theta$ minimoimalla χ^2 (5.18). Sovitus epälineaaristen parametrien suhteen suoritettiin Nelderin ja Meadin polytooppialgoritmilla. Jokaisella iteraatiokierroksella lineaaristen parametrien optimiarvo laskettiin annettujen epälineaaristen parametrien funktiona ratkaisemalla lineaarinen pienimmän neliösumman ongelma. Tälle optimille laskettiin χ^2 , jonka perusteella Nelderin ja Meadin algoritmi valitsi uuden epälineaaristen parametrien arvon. Iteraatio suppenee, kun parametrien alkuarvot ovat tarpeeksi lähellä paikallista minimiä.

Lopullisen tuloksen pätevyys tarkastettiin vielä tarkastelemalla visuaalisesti mallikäyrän sopivuutta mitattuun dataan. Kuvassa 5.2 on esitetty sovi-



Kuva 5.3: Laajakulmasirontamittaus, malli ja mittauksen ja mallin erotus koko mittausalueella.

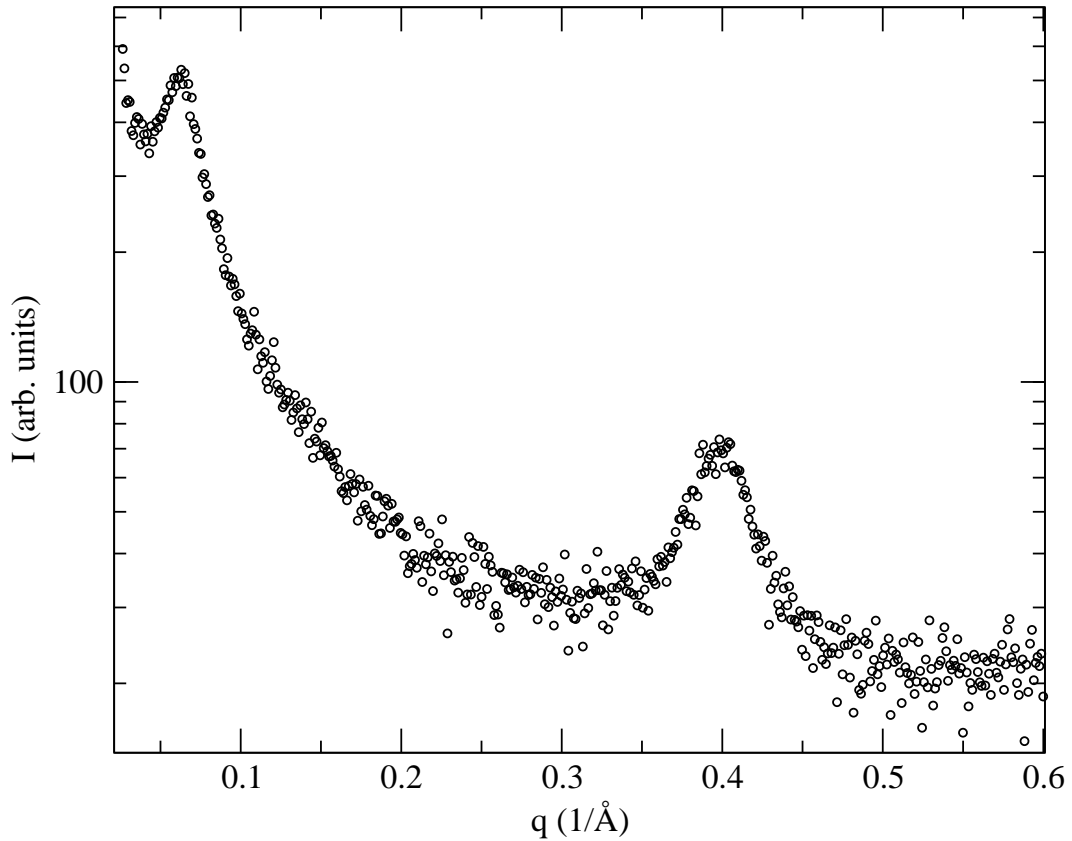
tus erääseen mittausdataan (Satu, tammikuu 1999). Sovituksen vapausasteiden⁴ lukumäärällä ν jaettu χ^2 laskettuna sovitusalueella 13 - 58 2θ oli noin 15, joka oli tyypillinen myös muille mittauksille. Arvoa ei voida pitää järin hyvänä, mutta käytettyjen mallien yksinkertaisuus huomioon ottaen kuitenkin kohtuullisena.

Sovitusparametrien tilastollinen virhe määritettiin edellä esitetyllä χ^2 :n variopintamenetelmällä. Tässä tapauksessa ei oltu kiinnostuneita viivanleveydestä σ , joten virhettä laskiessa sen yli suoritettiin optimointi.

Sovitusalueen ulkopuolella malli paljastuu vajavaiseksi (kuva 5.3). Pienkulma-alueella havaitaan ylimääräinen eksponentiaalisesti käyttäytyvä sironnan intensiteetti, jota mallit eivät kuvaa lainkaan. Kiteisen mallin 100-heijastus ei myöskään kuvaa täysin mitattua 100-heijastusta, vaan on hieman väärässä paikassa, hieman liian kapea ja intensiteetiltään liian heikko. Suuri osa näistä virheistä johtuu puutteellisesta laitefunktion mallintamisesta, osa taas kuvastaa todellista virhettä parametriarvoissa. Mallintamisen pääasiallinen tarkoitus oli kuitenkin arvioida perunatärkkelyksen kiteisyyttä, jolloin mallin puutteellisuudella pienkulma-alueella ei ole kovin suurta merkitystä.

Kullekin sovitetulle komponentille (vesi, kiteinen ja amorfinen tärkkelys)

⁴Sovituksen vapausasteiden lukumäärä on sen sisältämien mittauspisteiden lukumäärän ja vapaiden parametrien lukumäärän erotus.



Kuva 5.4: Esimerkki SAXS-mittaustuloksesta (Satu, tammikuu 1999).

laskettiin integraali (3.56) välillä $3 - 58 \cdot 2\theta^5$. Integraali jaettiin komponentin keskimääräisen elektronitiheyden neliöllä⁶ ja kerrottiin sovitukselta saadulla painokertoimella b_i . Näin saadun luvun suhteesta kaikista osakomponenteista samalla tavalla laskettujen lukujen summaan saatiin arvio komponenttien tilavuusosuuksille.

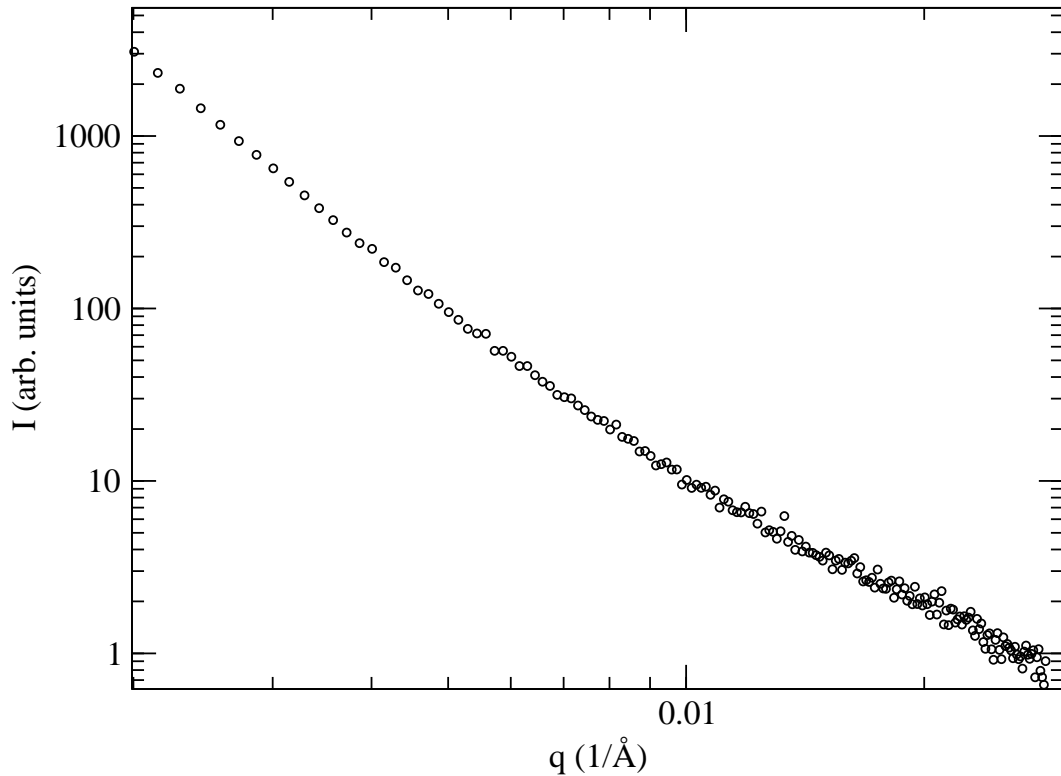
5.2.2 Pienkulmasironta

Mittaustulokset pienkulma-alueella (q välillä $0.02 \dots 0.6 \text{ \AA}^{-1}$) olivat diffraktiomittauksiin verrattuna yksinkertaisia. Koko sirontakuviota (kuva 5.4) kuvaa lähes täydellisesti funktio, joka koostuu q :n suhteen eksponentiaalisesta osasta $e^{-\alpha q}$, kahdesta Gaussin funktiosta ja vakiosta.

Diffraktiomaksimit tunnistettiin perunatärkkelyksen lamellaarisen raken-

⁵Huomaa, että väli on suurempi kuin sovituksessa käytetty, jotta kiteisen tärkkelyksen voimakkaat heijastukset pienillä kulmilla saataisiin mukaan, integraalin q^2 -painotuksen takia tämä korjaus on kuitenkin varsin merkityksetön.

⁶Vedessä (H_2O , tiheys 1000 kg/m^3) on normaaliolosuhteissa luokkaa $3.34 \cdot 10^{26}$ elektronia/ m^3 , tärkkelyksessä (glukoosiyksikkö $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, tiheys 1530 kg/m^3) $3.21 \cdot 10^{26}$ elektronia/ m^3 . Tiheydet saatiin viitteestä [37].



Kuva 5.5: Esimerkki pitkällä mittausetäisyydellä tehdyn USAXS-mittauksen (Satu) tuloksesta.

teen ja tärkkelyksen 100-heijastuksen aiheuttamiksi. Mittaustulokseen sovitettiin kahta eri mallia, yhtä kummankin havaitun diffraktiopiikin kohdalle. Ensimmäinen, pienille q :n arvoille ($0.028 \dots 0.145 \text{ \AA}^{-1}$) sovitettu malli koostui eksponenttifunktiosta, Gaussin funktiosta ja vakiosta. Mallin kiinnostavat parametrit olivat eksponentin α arvo ja diffraktiopiikin paikka. Mittauksen resoluutio ei riittänyt diffraktiomaksimin leveyden määrittämiseen luotettavasti.

Toinen välille $0.25 \dots 0.50 \text{ \AA}^{-1}$ sovitettu malli koostui ainoastaan Gaussin funktiosta ja vakiosta. Kiinnostavat parametrit olivat diffraktiomaksimin paikka ja sen leveys, joista laskettiin lopulliset tulokset eli arviot tärkkelyksen hilavakiolle a ja kidekoolle.

Mallit kuvasivat dataa tilastollisen tarkkuuden rajoissa täydellisesti, joten sovitusten χ^2/ν -arvoja ei ole erikseen ilmoitettu. Parametrien virheet määritettiin χ^2 :n vakiopintamenetelmällä. Lisäksi parametriarvoja korjattiin mittalaitteiston aiheuttaman vääristymän verran kappaleessa 4.2.2 esitetyn mukaan.

5.2.3 USAXS

Sädelinjalta BW4 saaduissa mittaustuloksissa havaittiin seuraavanlaiset piirteet: Sironravektorin vs. intensiteetin kaksoislogaritmikuvissa havaittiin kaksi suoraa aluetta, eli intensiteetti noudatti potenssilakia $I \propto q^{-\alpha}$. Pienemmillä kulmilla eksponentti α oli suurempi (välillä 3.5 ... 4.0), noin q -arvolla 0.007 \AA^{-1} eksponentti muuttuu loivasti pienempään arvoon (välille 1.6 ... 2.5). Lineaarinen osuus jatkuu tämän jälkeen noin arvoon $q = 0.036 \text{ \AA}^{-1}$ asti, jonka jälkeen havaitaan perunatärkkelyksen lamellaarisesta rakenteesta aiheutuva diffraktiopiikki, joka vastaa noin sadan Ångströmin etäisyyttä.

Pidemmältä etäisyydeltä (q välillä $0.0015 \dots 0.027 \text{ \AA}^{-1}$) tehdyt mittaukset analysoitiin sovittamalla kahteen kaksoislogaritmikuvaajan lineaariseen alueeseen kuhunkin suora tavanomaisella lineaarisella regressiolla [33]. Regressiossa tarvittavat datapisteiden logaritmin virheet laskettiin virheenkasautumislaila [34].

Lyhyeltä etäisyydeltä tehdyistä mittauksista (q välillä $0.004 \dots 0.080 \text{ \AA}^{-1}$) pyrittiin saamaan selville toinen potenssilaki. Lamellaarista rakennetta vastaavaan diffraktiopiikkiin sovitettiin Gaussin funktio, jonka paikasta ja leveydestä määritettiin lamellien etäisyys ja arvio lamelliklusterien koolle Scherrerin kaavan (3.53) avulla.

Eksponenttien virherajat saatiin regressiokaavasta. Gaussin funktiosta määritettyjen parametrien epävarmuudet saatiin etsimällä soveltuva χ^2 :n vakio-pinta.

Luku 6

Tulokset

Under carefully controlled experimental circumstances, an animal will behave as it damned well pleases.

The Harvard Law of Animal Behavior

6.1 Diffraktiomittaukset

Soseutetuista ja kokonaisista perunanäytteistä mitatusta laajakulmaröntgensironnasta saadut parametriarvot on esitetty kuvissa 6.1-6.4. Kuvien x -akseli on kuukausi, mittaukset alkavat elokuussa (kuukausi 8) ja jatkuvat vuoden vaihteen yli aina seuraavan vuoden kesäkuuhun asti (kuukausi 18).

Yleinen tuloksista havaittava piirre on soseista määritettyjen arvojen pienempi hajonta. Tämä on ymmärrettävää ottaen huomioon, että soseet valmistettiin sekoittamalla useampaa mukulaa, jolloin yksilökohtaisten vaihtelujen ero pienenee.

Hilavakiot eivät käyttäydy säännönmukaisesti syksyn ja talven aikana. Soseista mitatut arvot pysyvät virherajojen sisällä vakioina, samoin kokonaisista mukuloista mitatut arvot, tosin näissä vaihtelu on suurempaa, jälleen mitä luultavimmin yksilökohtaisista eroista johtuen. Maaliskuussa (kuvien skaalassa kuukausi 15) havaitaan soseissa hilavakioiden muutos, jota ei voida selittää satunnaisvirheellä. Hilavakio a (kuva 6.1) pienenee keskimäärin 0.2 \AA samalla kun hilavakio c (kuva 6.2) kasvaa saman verran. Samaan aikaan mitatut kokonaiset perunasiivut eivät näytä muuttuvan, vaikkakin eri näytteiden keskimääräinen hajonta kasvaa helmi- ja maaliskuun jälkeen.

Malliaineiden intensiteettejä sovittamalla määritetyt arviot kiteisyydelle ja veden osuudelle näytteissä eivät muutu missään vaiheessa dramaattisesti. Yleinen kiteisen tärkkelyksen osuudessa (kuva 6.3) varastoinnin aikana havaittu muutos on hienoinen kasvu, joka on selkeämmin havaittavissa kokonaisina mitatuissa näytteissä. Kiteisyys pysyy soseutetuissa näytteissä koko

seurantajakson ajan lähes vakiona ja on tasoltaan hieman matalampi kuin kokonaisissa mukulasiivuissa. Sosenäytteiden prosessointi huomioon ottaen tämä ei ole yllätys.

Veden osuus (kuva 6.4) pysyy lähes vakiona koko seurannan ajan lukuunottamatta muutamia selvästi normaalien arvojen ulkopuolella olevia pisteitä, joita voidaan pitää yksittäistapauksina. Soseutetuista näytteistä mitatut arvot ovat jälleen huomattavan tasaisia, mikä selittyy soseen tekemisen homogenisoivalla vaikutuksella. Kokonaisina mitatuista näytteistäkään ei löydy systematiikkaa elokuun tuoreeltaan sadonkorjuun jälkeen mitatuista perunoista saatua suurempaa veden osuuden arvoa lukuunottamatta.

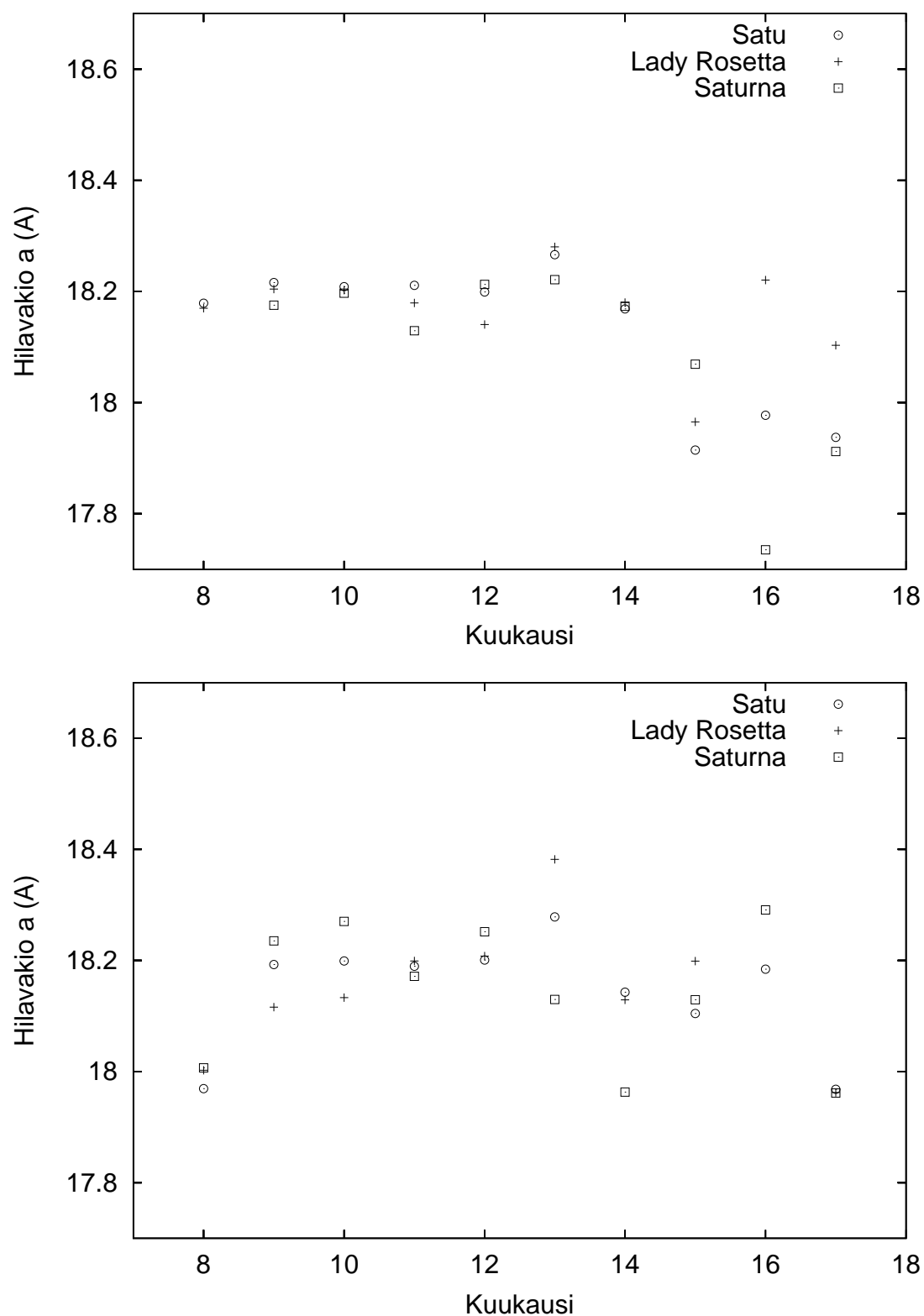
Vedellä on merkittävä osa tärkkelyksen kiderakenteessa, siksi on mielenkiintoista tarkastella, nähdäänkö kiteisyyden ja veden osuuden välillä minikäänlaista korrelaatiota. Kuvaan 6.5 on piirretty kiteisen tärkkelyksen osuus saman näytteen veden osuuden funktiona koko seurantajakson ajalla. Kiteisyyden ja veden määrän korrelaation näkee selvästi olevan heikosti positiivinen, mutta pisteiden hajonta on suurta. On huomattava, että käytetty menetelmä mittaa vain vettä, joka ei ole sitoutunut muuhun rakenteeseen. Tämä niin sanottu irtovesi vaikuttaa kiteisyyteen vain toispuoleisesti: Ylimääräinen vesi ei lisää näytteen kiteisyyttä, mutta näytteen kuivuessa vettä sisältävä kiderakenne hajoaa ja kiteisyys laskee.

6.2 Pienkulmasirontamittaukset

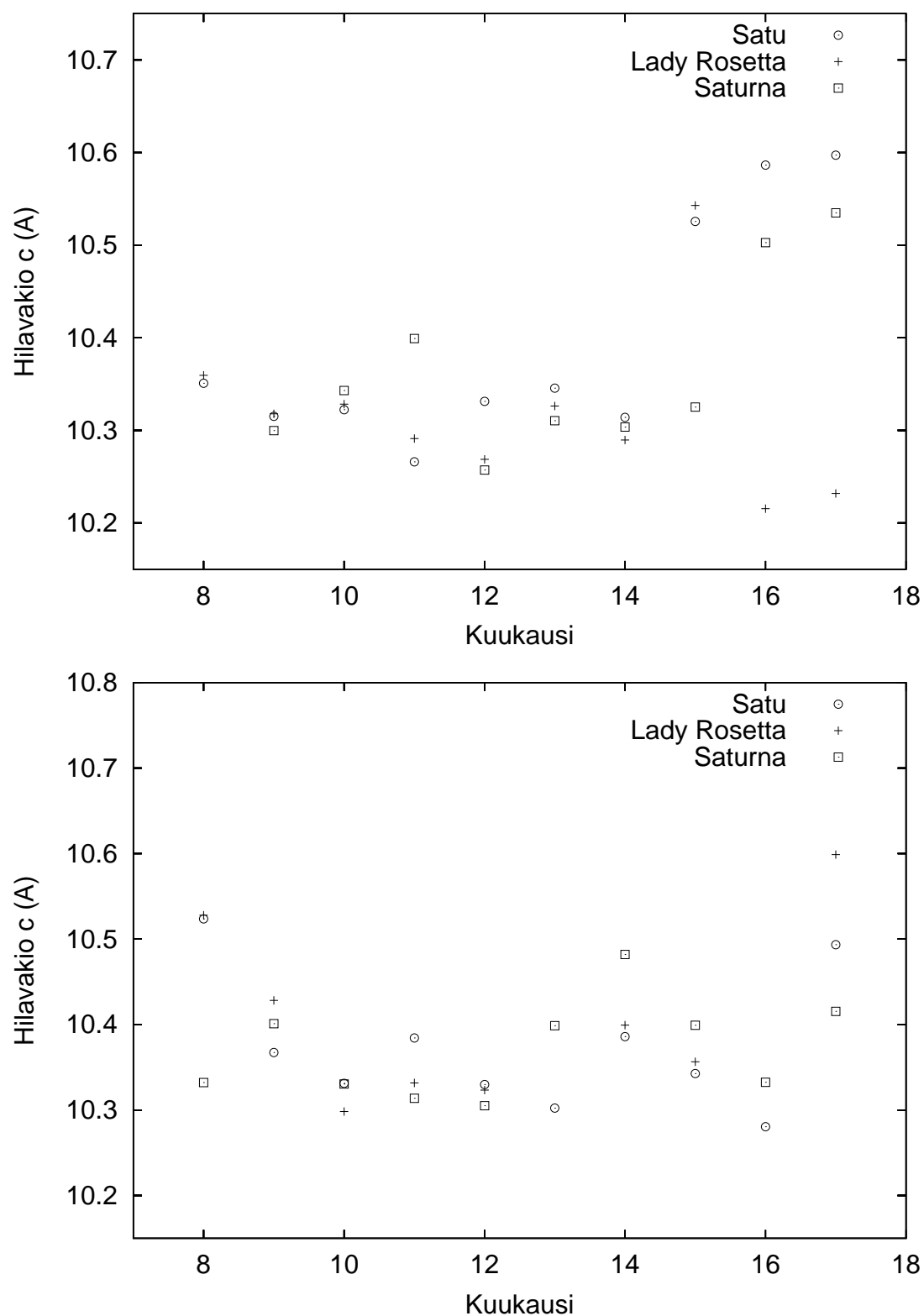
Pienkulmasirontamittausten avulla määritetyt hilavakio a , tärkkelyskiteen koko ja lamellirakenteen periodi on esitetty kuvissa 6.6-6.8. Mittauksille yhteinen piirre on suuri koesarjan sisäinen hajonta. Soseesta ja kiinteästä siivusta tehtyjen mittausten välillä ei tässä tapauksessa ole suurta eroa.

Hilavakion a arvoa seuranta-ajan kuluessa (kuva 6.6) on mielenkiintoista vertailla diffraktometrillä saatuihin tuloksiin. Hilavakion määrittämisessä saatutettava sisäinen tarkkuus on periaatteessa parempi käytettäessä SAXS-laitteistolla mitattua 100-heijastusta, näytesarjassa havaittava suuri hajonta on siis laitettava osaltaan näytteiden kiderakenteen todellisen vaihtelun syyksi. Toinen huomiota herättävä seikka on näytesarjan loppupäässä maalisiivon vaihteessa tapahtuva hilavakion arvon muutos, aivan kuten diffraktometrillä tehdyissä mittauksissa. Tässä tapauksessa muutos kuitenkin tapahtuu kohti suurempaa hilavakiota, kun edellä esitetyissä mittauksissa muutos oli pienempää hilavakiota kohden.

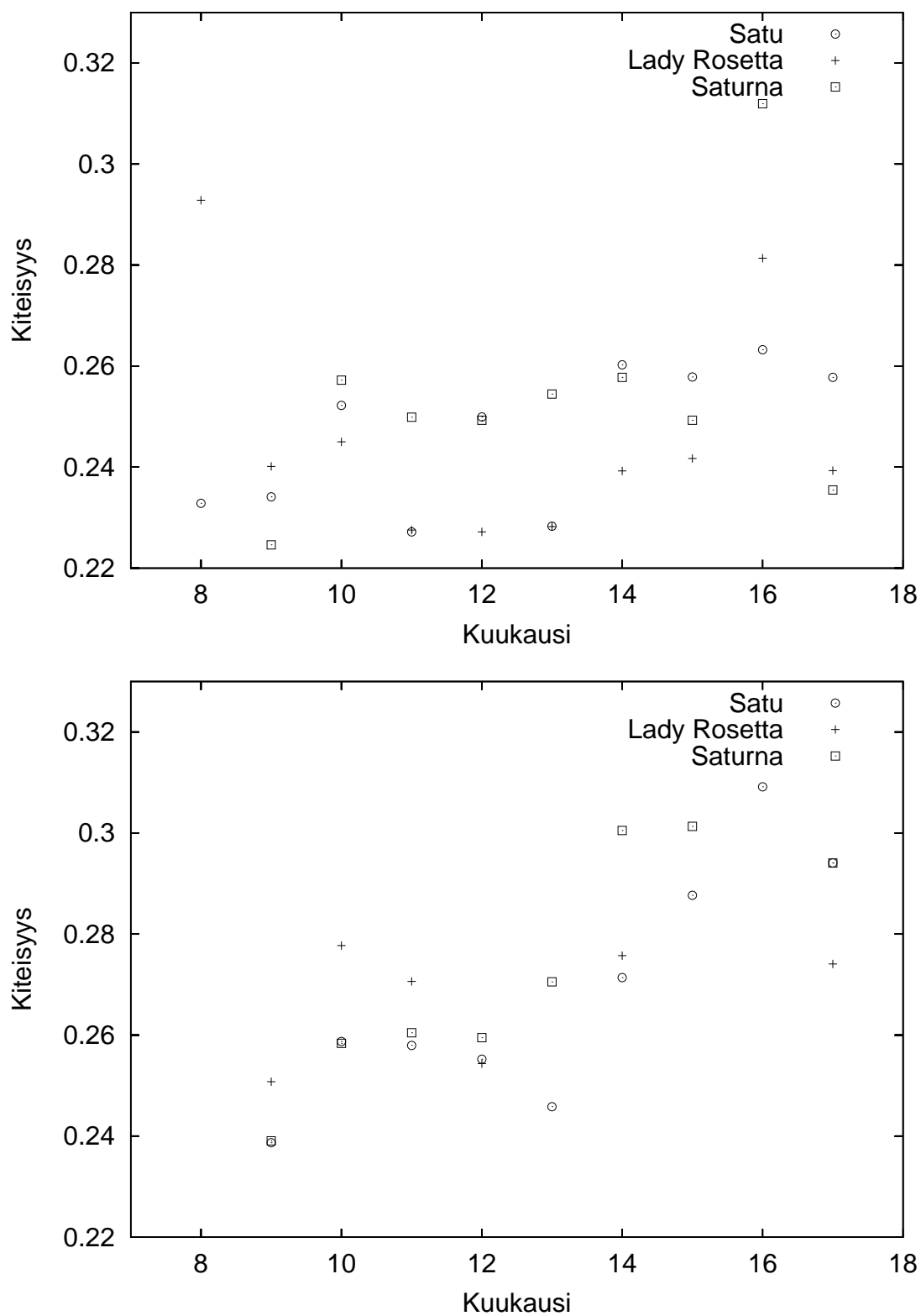
Tärkkelyskiteen koon määrittäminen 100-heijastuksen leveyden perusteella ei näytä tuovan mitään informaatiota rakenteesta varastoinnin aikana tapah-



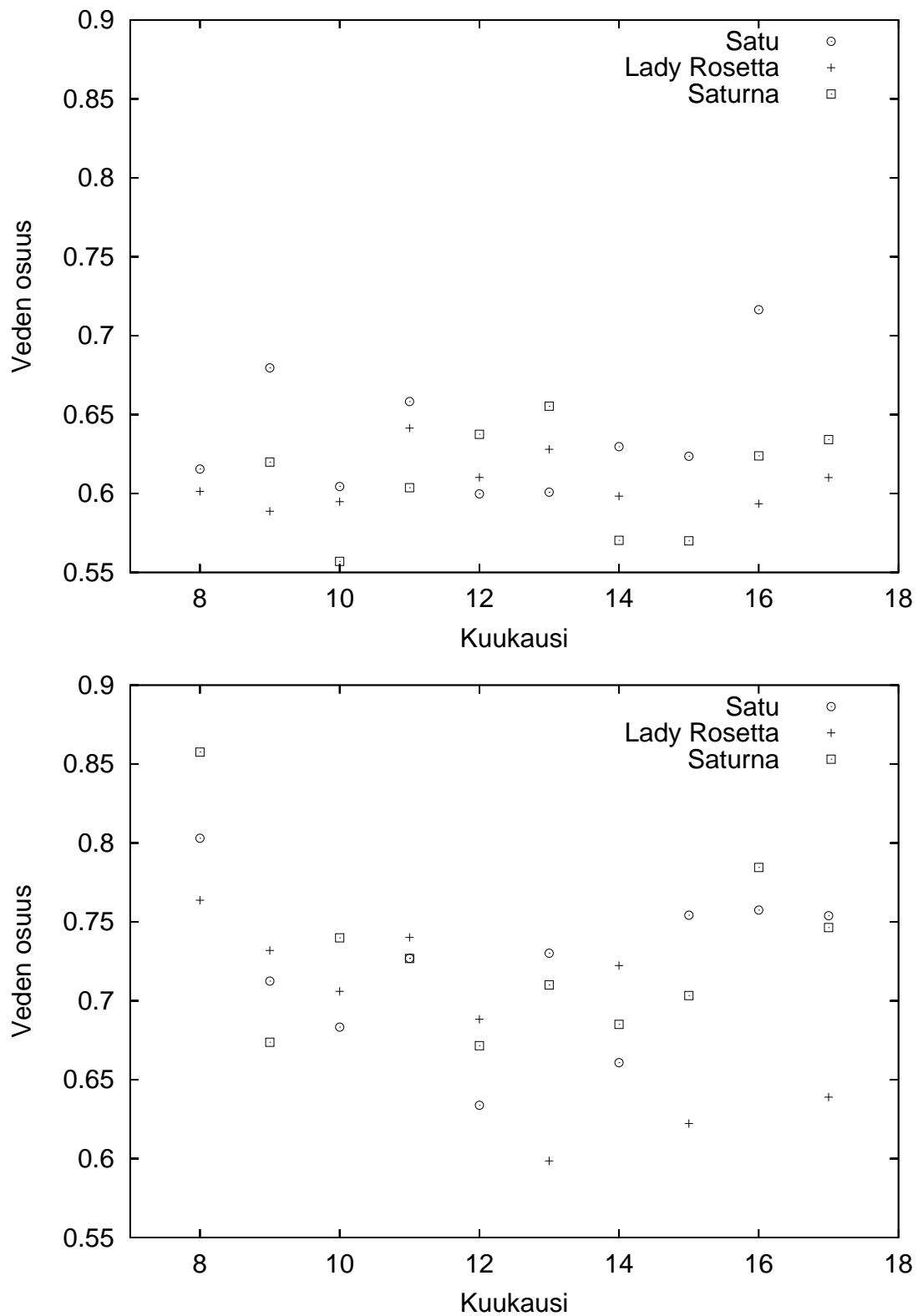
Kuva 6.1: Diffraktometrillä määritetty hilavakion a arvo seurannan aikana. Pisteiden virherajat noin ± 0.05 Å. Ylempi kuva soseet, alempi kokonaisina mitatut.



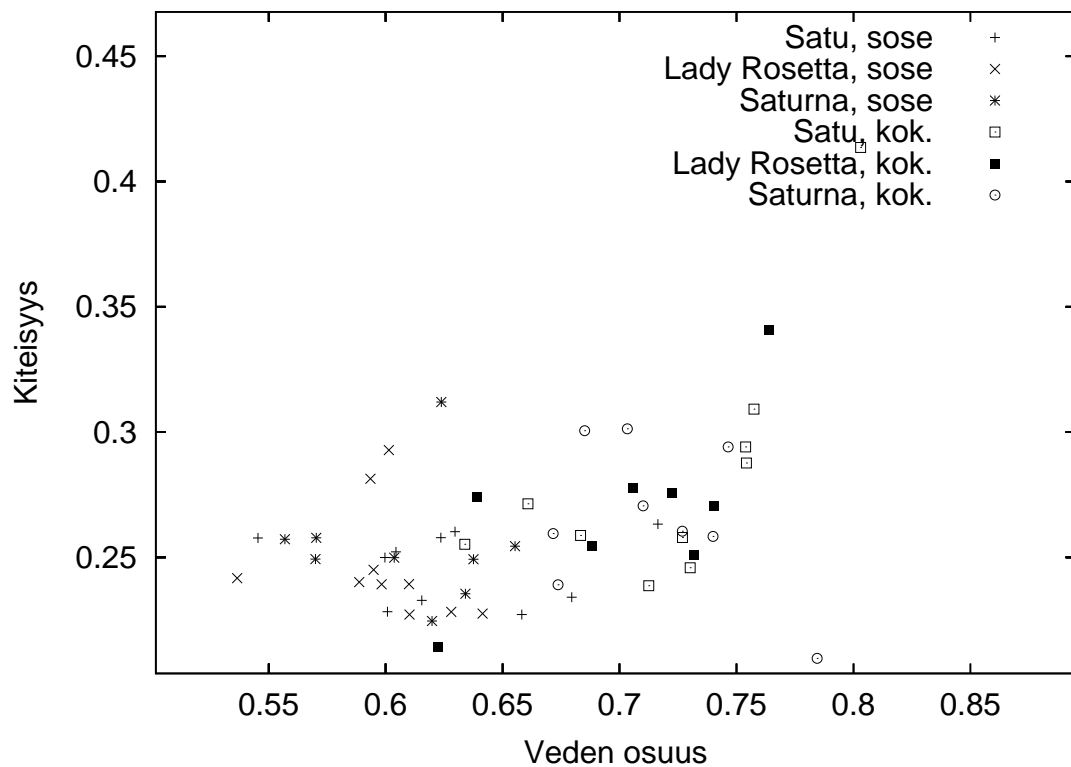
Kuva 6.2: Diffraktometrillä määritetty hilavakion c arvo seurannan aikana. Pisteiden virherajat noin ± 0.06 Å. Ylempi kuva soseet, alempi kokonaisina mitatut.



Kuva 6.3: Kiteisyyden arvo seurannassa. Pisteiden virherajat noin ± 0.03 . Ylempi kuva soseet, alempi kokonaisina mitatut.



Kuva 6.4: Veden osuus seurannan aikana. Pisteiden virherajat noin ± 0.02 . Ylempi kuva soseet, alempi kokonaisina mitatut.



Kuva 6.5: Näytteen kiteisyys sen veden osuuden funktiona koko seurantajakson aikana. Pisteiden epätarkkuudet n. ± 0.02 x -akselilla ja ± 0.03 y -akselilla.

tuvista muutoksista. Mittauspisteitä (kuva 6.7) kuvaa virherajojen puitteissa koko seuranta-ajan vakioarvo 130 \AA . Soseiden mittauksissa tosin voidaan havaita pieni muutos kohti suurempaa kidekokoa jälleen maalisi- ja huhtikuun vaihteessa.

Lamellaarisen rakenteen hilavakion (kuva 6.8) kanssa ei olla juurikaan paremmassa tilanteessa. Kyseinen parametri pystytään periaatteessa määrittämään mittausdatasta kohtalaisen hyvällä sisäisellä tarkkuudella (noin $\pm 1 \text{ \AA}$), mutta näytesarjan sisäiset vaihtelut ovat jälleen suuria, eikä koesarja osoita minkäänlaista systemaattista käyttäytymistä varastointiajan kuluessa. Käytettyä lamellaarisen rakenteen parametrisointia voidaan myös kritisoida. Cameron ja Donald [38] käyttivät tarkkelyksen lamellaarisen rakenteen pienkulmasirontatulosten analysointiin parakidemallia, jossa on kuusi parametria. Niistä neljä kuvaa suoraan rakennetta tai siihen liittyviä todennäköisyysjakaumia. Tässä työssä käytetty malli sisälsi myös kuusi parametria, mutta vain kahdella niistä (lamelliipiikin paikka ja sen leveys) on suora rakenteeseen liittyvä tulokinta, ja vain lamelliipiikin paikka eli kiderakenteen Braggin etäisyys (3.42) voitiin määrittää riittävällä tarkkuudella.

Diffraktometri- ja SAXS-tulosten yhteinen piirre on useimpien paramet-

Taulukko 6.1: Rakenneparametrien keskiarvo ja otoshajonta talvehtimiskauden aikana syyskuusta helmikuuhun.

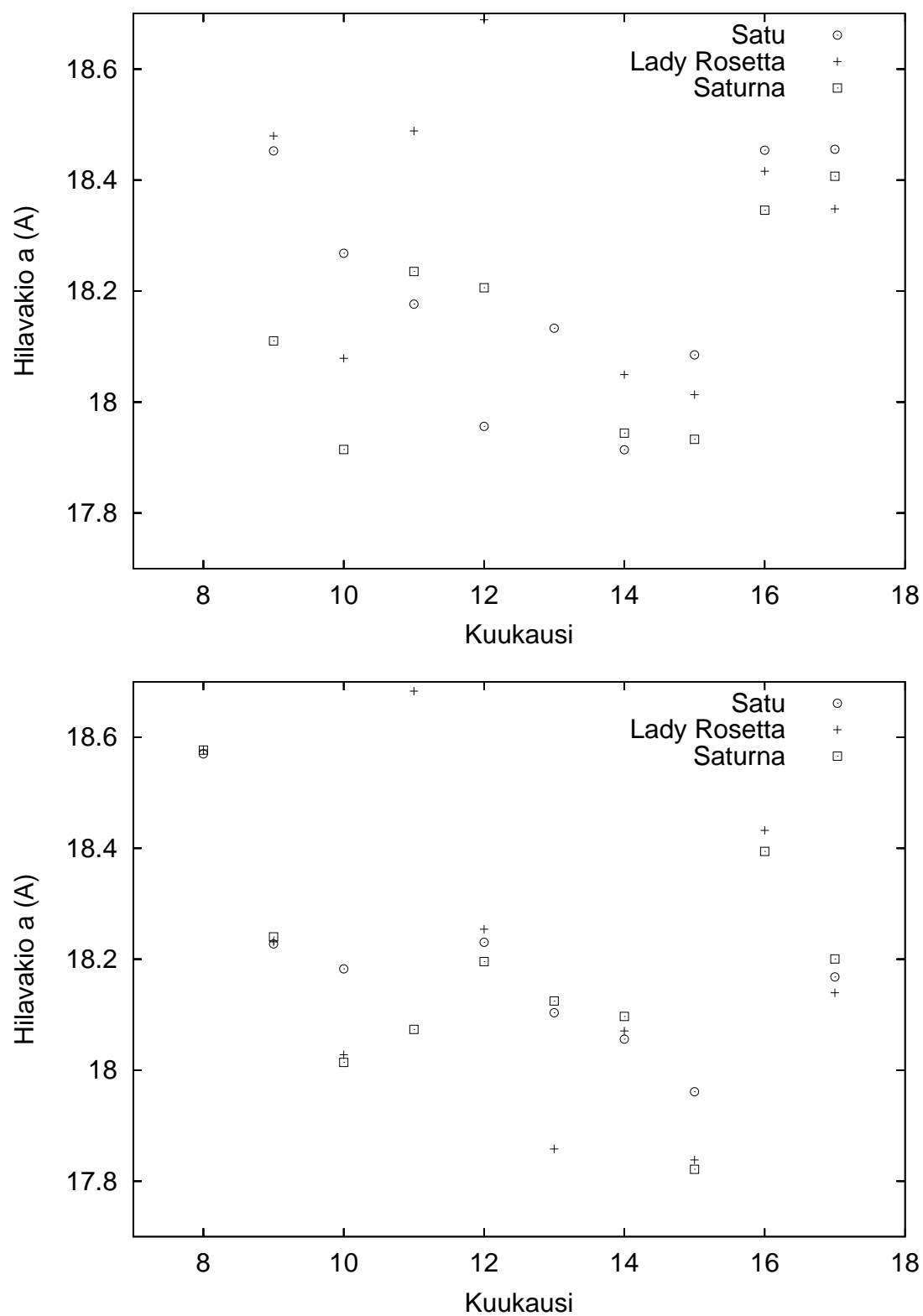
Parametri	Keskiarvo	Otoshajonta
Hilavakio a (SAXS)	18.15 Å	0.23 Å
Hilavakio a (WAXS)	18.19 Å	0.07 Å
Hilavakio c (WAXS)	10.34 Å	0.05 Å
Kidekoko (SAXS)	126 Å	7.1 Å
Lamellietäisyys (SAXS)	102 Å	3.0 Å
Kiteisyys, kokon. (WAXS)	0.261	0.015
Kiteisyys, sose (WAXS)	0.242	0.013
Veden osuus, kokon. (WAXS)	0.697	0.039
Veden osuus, sose (WAXS)	0.615	0.031

riarvojen pysyminen vakiona talvehtimiskauden aikana syyskuusta helmikuuhun. Käsittelemällä koko tällä välillä mitattua aineistoa yhtenä otoksena, voidaan arvioida kyseisten rakenneparametrien jakaumaa suomalaisessa perunassa. Taulukossa 6.1 on esitetty mitattujen parametrien jakaumien tunnusluvut keskiarvo ja otoshajonta talvehtimiskautena käyttäen aineistona kaikkia tehtyjä mittauksia. Kiteisyyden ja veden osuuden keskiarvot poikkeavat soseina ja kokonaisina mitatuissa näytteissä toisistaan, joten näiden parametrien kohdalla arvot on ilmoitettu erikseen näille kahdelle näytetyypille. Muiden parametrien kohdalla on ilmoitettu vain yksi, molempia mittauksia käyttäen laskettu arvo.

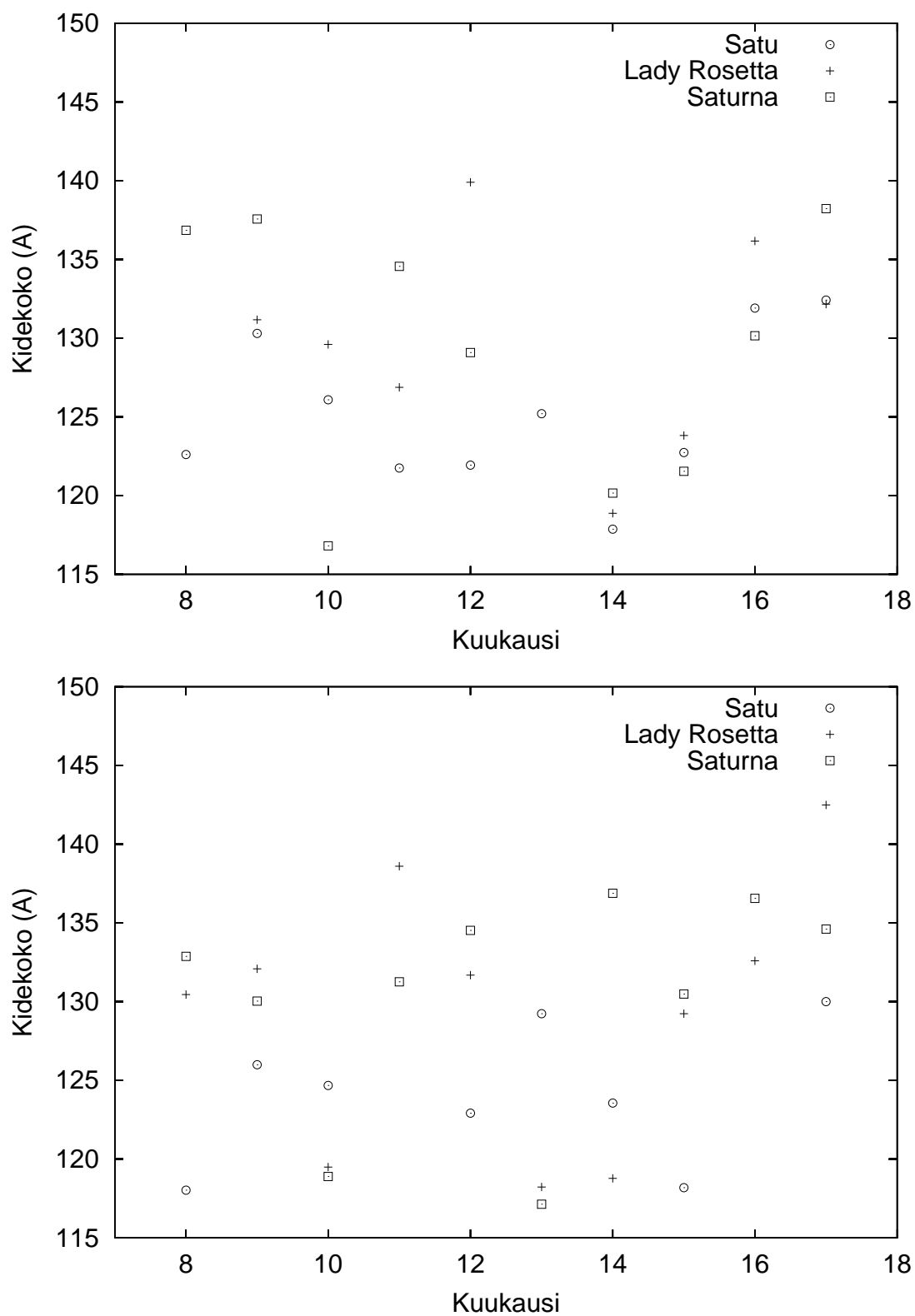
6.3 USAXS-mittaukset

Seurantajajikkeiden USAXS-mittauksista määritetyt parametriarvot on esitetty taulukossa 6.2. Lamelliheijastuksesta määritetyt parametriarvot d ja L eivät vaihtelee juurikaan lajikkeiden kesken, sen sijaan potenssilaeissa α_1 ja α_2 on selvästi eroja.

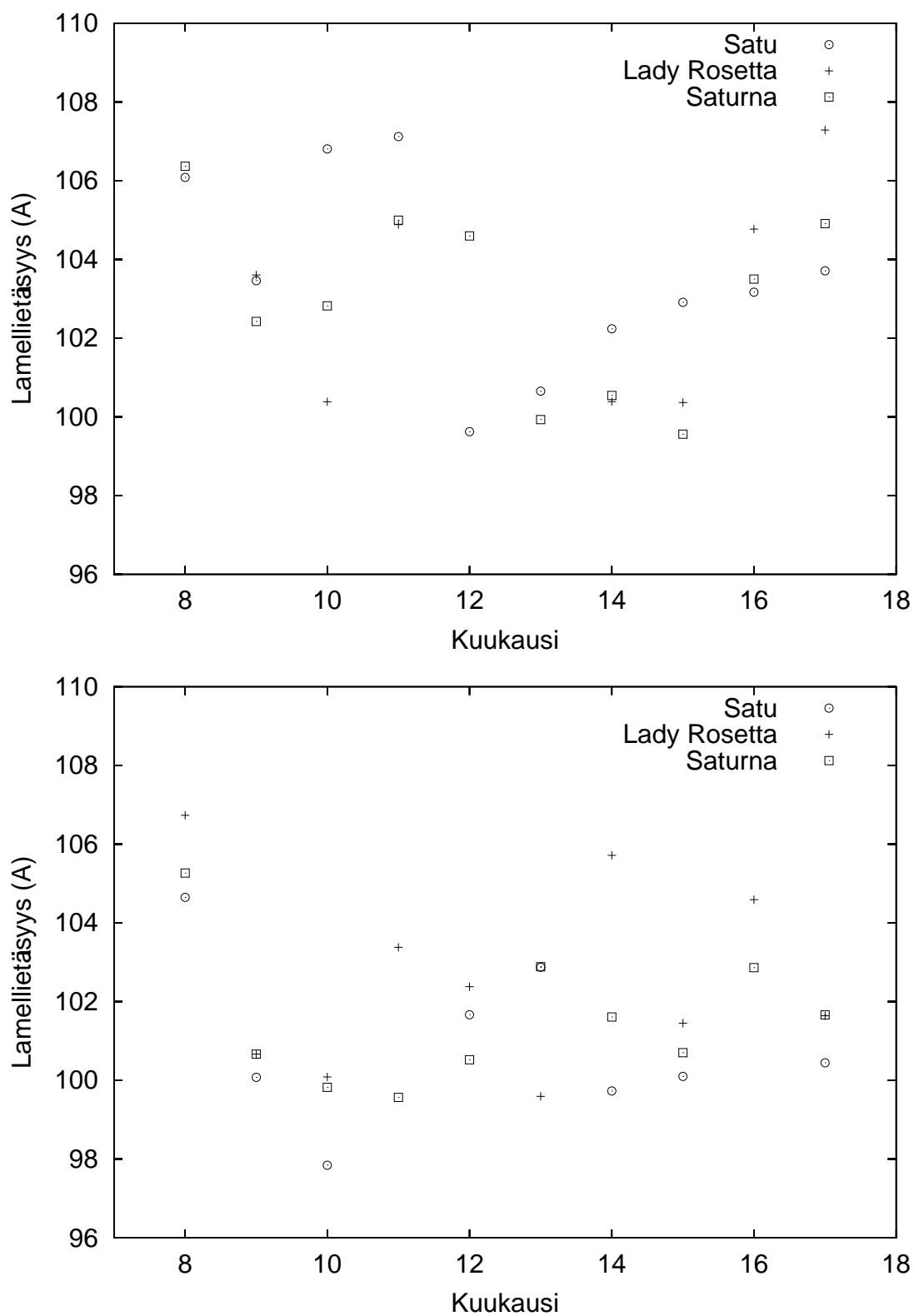
Erittäin pienillä sirontakulmilla havaittu potenssilaki voidaan tulkita pintafraktaalien sironnaksi. Luvussa 3 esitetyn teorian mukaan tällaiset rakenteet sirottavat yhtälön $I \propto q^{D-6}$ mukaan. Mitatut eksponentit α_1 ovat arvoltaan joko -4 tai hieman alle, joten rakenne on pinnaltaan joko sileä ($D = 2$) Porodin lakia noudattava suuri kappale tai sitten pienessä määrin pintafraktaalinen ($D > 2$). Voidaan spekuloida, että se pinta, josta sironta on peräisin kuuluu kirjallisuudessa (ks. luku 2) esitettyyn bloklettiin tai superhelixiin. Potenssila-



Kuva 6.6: SAXS-mittauksista määritetty hilavakion a arvo seurannan aikana. Pisteiden virherajat noin ± 0.03 Å. Ylempi kuva soseet, alempi kokonaisina mitatut.



Kuva 6.7: Tärkkelyskiteen koko seurannan aikana. Pisteiden virherajat noin ± 5 Å. Ylempi kuva soseet, alempi kokonaisina mitatut.



Kuva 6.8: Lamellietäisyys seurannan aikana. Pisteiden virherajat noin ± 1 Å. Ylempi kuva soseet, alempi kokonaisina mitatut.

Taulukko 6.2: USAXS-mittausten tulokset seurannassa olleista lajikkeista, missä d on lamellirakenteen Braggin etäisyys, L on lamellirakenteen kidekoko ja α_1 ja α_2 ovat q -väleiltä $0.002 \dots 0.006 \text{ \AA}^{-1}$ ja $0.01 \dots 0.03 \text{ \AA}^{-1}$ määritetyt potenssilait.

Lajike	$d (\pm 1 \text{ \AA})$	$L (\pm 10 \text{ \AA})$	$\alpha_1 (\pm 0.1)$	$\alpha_2 (\pm 0.1)$
Satu	95	510	-3.8	-2.5
Lady Rosetta	96	520	-3.5	-2.3
Saturna	99	510	-4.0	-1.6

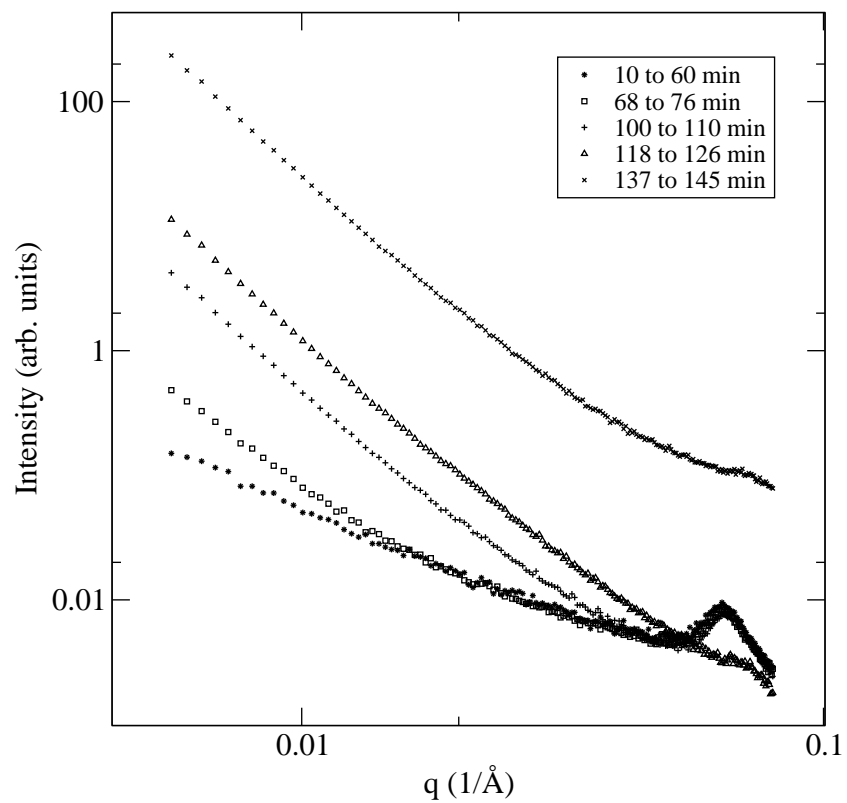
ki havaitaan sirontavektorin arvoilla $0.002 - 0.006 \text{ \AA}^{-1}$, joka yhtälön (3.40) mukaan voidaan samaistaa kokoluokkaa $300 - 100 \text{ nm}$ oleviin rakenteisiin. Tämä kokoluokka on sama kuin bloklettirakenteelle esitetty.

Toinen potenssilaki vastaa massafraktaalisen sirontaa $I \propto q^{-D}$. Mitatut eksponentit α_2 ovat Saturnaa lukuunottamatta välillä $-2 \dots -3$. Sirottava rakenne voi tässä tapauksessa olla fraktaalisesti haaroittunut amorfisen tärkkelyksen.

Satu-lajikkeesta kuivumisen aikana tehdyt mittaukset USAXS-laitteiston lyhyellä etäisyydellä on esitetty kuvassa 6.9. Ensimmäisen tunnin aikana ei näytteessä tapahdu havaittavia muutoksia. Mittausalueella on havaittavissa yksi potenssilaki q -alueella $0.006 - 0.045 \text{ \AA}^{-1}$ ja eksponentilla -1.6 . Lamellirakenteen diffraktiomaksimi erottuu selvästi. Kuivumisen edistyttyä potenssilaki jakautuu kahteen osaan, pienemmillä kulmilla havaitaan intensiteetin kasvavan ja eksponentiksi voidaan määrittää -3.0 , suurilla kulmilla intensiteetti ei muutu. Näytteen rakenne on tässä vaiheessa todennäköisesti sekoitus osittain kuivunutta ja natiivia rakennetta.

Kuivumisen jatkuessa intensiteetti pienillä kulmilla jatkaa kasvamistaan ja potenssilakien vaihtumiskohta siirtyy suuremmille kulmille. On kyseenalaista voiko näytteessä enää sanoa olevan enää kahta potenssilakia kuivan rakenteen voimakkaan sironnan peittäessä natiivin rakenteen sironnan alle. Tässä vaiheessa oletettavasti kaikki irtovesi ja suurin osa amorfisen tärkkelyksen vedestä on haihtunut näytteestä. Pienillä kulmilla mitattu eksponentti on suuruudeltaan -3.7 .

Kun mittausta oli jatkettu 110 minuuttia, tapahtui rakenteessa dramaattinen ja äkillinen muutos. Lamellirakenteesta kertova heijastus hävisi kokonaan, mikä merkitsee, että kiteiseen alueeseen sitoutunut vesi oli haihtunut tuhoten rakenteen. Pienkulmasironnan intensiteetti jatkaa kuivumisen edetessä edelleen kasvamista, ja potenssilain eksponentti kasvaa arvoon -3.8 . Koe lopetettiin, kun kuivumista oli jatkunut 145 minuuttia. Sironnan intensiteetti pienimmällä mitatulla kulmalla oli tällöin kasvanut kolme kertaluokkaa suurem-



Kuva 6.9: USAXS-mittaustulokset perunanäytteen kuivuessa.

maksi kuin natiivissa perunassa. Näin voimakas sironta voi selittyä vain elektronitiheyseroltaan suurilla rakenteilla. Mikroskooppisten ilmakuplien muodostuminen haihtuneen veden tilalle tarjoaa erään mahdollisen selityksen.

Luku 7

Johtopäätökset

Scientists and educators alike need to realize that the educated person is not the person who can answer the questions, but the person who can question the answers.

Theodore Schick Jr.

Biologisten materiaalien kvantitatiivinen tutkimus on haastava ongelma. Perinteinen kokeellisen fysiikan lähestymistapa, systeemin yksinkertaistaminen äärimmilleen, näytteeseen vaikuttavien parametrien muuttaminen kontrolloidusti vain yksi kerrallaan ja systeemin vasteen mittaaminen tämän parametrien funktiona ei aina ole mahdollista.

Tässä työssä näytteen kontrollointiin liittyvät ongelmat tulevat korostettuihin esille. Mittauksen kohde on elävä organismi, jossa aineenvaihdunta tapahtuu ainakin leikenäytteiden tapauksessa vielä mittauksen aikana. Näytteestä mitatut suureet riippuvat sen historiasta tavalla, jonka ymmärtäminen ei ole mahdollista tämänhetkisen tiedon pohjalta. Työssä käytetyt kontrolliparametrit, varastointiaika ja lajike (genotyyppi), eivät yksinään vaikuta rakentamiseen riittävästi, jotta merkitseviä eroja pelkästään näiden parametrien funktiona olisi saatu esille.

Varastointiajan lisäksi myös varastointiolosuhteet ja niiden aikaansaama perunan fysiologinen tila vaikuttavat suuresti näytteeseen. Lienee selvää, että mukulan itäessä tapahtuu myös tärkkelysrakenteessa suuria muutoksia, kun mukula ottaa energiavarastonsa käyttöön. Itämisen alkamishetki ei ole suoraan riippuvainen varastointiajasta, vaan riippuu enemmänkin muista ulkoisista olosuhteista, joita tässä työssä ei pystytty tarkkaan kontrolloimaan. Mahdolliset jatkotutkimukset tulisivatkin tehdä ennemminkin mukulan fysiologisen iän tai jonkun muun sen elinkaaren parametrisoinnin funktiona, kuin suoraan kalenterikuukausien mukaan.

Kuivumismittaukset osoittavat, että veden vaikutus natiiviin tärkkelysrakenteeseen on suuri, pitkään kestävässä mittaustapahtumassa (diffraktiomit-

tausten kesto oli noin 12 h näytettä kohti) veden määrän tarkka kvantifiointi on vaikeaa, vaikka näyte huolellisesti suojaamalla saadaankin haihtuminen suurimmaksi osaksi estettyä.

Diffraktiomittausten analysointiin käytetty kolmikomponenttimalli osoittautui sopivan yllättävän hyvin yhteen koetulosten kanssa. Suurimmat poikkeamat olivat pienkulma-alueella, jota vastaavia suuren kokoluokan rakenteita malli ei sisältänyt. Mallin pätevyysalueella suuremmilla kulmilla poikkeamat olivat lähinnä kiteisen tärkkelyksen mallissa, joidenkin näytteessä havaittujen heijastusten intensiteetit erosivat johdonmukaisesti mallin antamista arvoista. Kiteinen malli perustui kirjallisuudessa esitettyyn atomaariseen rakenteeseen, jota parantamalla poikkeamat on ehkä mahdollista poistaa.

Pienkulmasirona tarkempaan menetelmänä puolustaa paikkaansa tässä työssä, vaikka tuloksissa ei ilmennytäkään ajan suhteen suurempaa systemaattikkaa kuin diffraktometrillä tehdyissä mittauksissa. Joko näytteiden sisäinen variaatio oli liian suuri tai ulkoisten olosuhteiden ja näytteiden historian kontrolloimisen mahdottomuus aiheuttivat mitattuihin parametreihin niin suuren vaihtelun, että muutokset ajan suhteen olivat vähäisiä. Diffraktometrituloksissakin havaittu parametriarvojen muuttuminen maaliskuun jälkeen nähdään myös pienkulmasironnalla mitatussa hilavakiossa a ja sosenäytteistä mitatussa tärkkelyskiteen koossa. Se, miksi hilavakiolle mitattu arvo muuttuu eri menetelmillä eri suuntaan, jää epäselväksi. Yksi mahdollinen selitys on diffraktometrillä tehdyn hilavakion määrittämisen epäonnistuminen muutaman maaliskuun jälkeen tehdyn mittauksen kohdalla. Pienkulmasirona tuottaa johdonmukaisesti hilavakion kasvun sekä soseena että kokonaisina mitatuille näytteille, kun diffraktometrituloksissa sen sijaan havaitaan selvä muutos kohti pienempää hilavakiota vain sosenäytteissä.

Synkrotronilähteellä tehdyt mittaukset erittäin pienillä sirontakulmilla toivat lisäinformaatiota mukulan tärkkelyksen suuren kokoluokan rakenteesta. Mittaustulosten tulkinta fraktaalikäsitteen avulla tukee aikaisemmin esitettyä mallia tärkkelysrakeen kiteisen osan nanometrikokoluokan rakenteeksi. Perunanäytteen kuivuessa tehdyt mittaukset valaisevat veden ja natiivin tärkkelyksen rakenteen yhteyttä. Natiivi tärkkelys yksinään ei pysty ylläpitämään lamellaarista rakennetta, vaan vedellä on rakenteessa merkittävä rooli.

Röntgensirontamenetelmien havaittiin soveltuvan natiivin perunan sisältämän tärkkelyksen tutkimiseen. Kvalitatiivisesti tarkasteltuna käytetyt mallit kuvasivat mittaustuloksia hyvin, eikä tulosten tulkinnassa ole tämän suhteen ongelmia. Kvantitatiivisten tulosten sisäinen tarkkuus on riittävä, kunhan mittaukset suoritetaan huolellisesti. Hyvään ulkoiseen tarkkuuteen on mahdollista päästä lähinnä diffraktiomaksimien paikan avulla määritettävien suureiden, eli hilavakioiden ja lamellietäisyyden suhteen. Muiden suureiden

(kidekoko ja kiteisyys) tarkkojen arvojen määrittäminen röntgensironnalla on vaikeaa. Intensiteetissä havaittavat piirteet riippuvat monista näytteen ominaisuuksista, joiden tiivistäminen yhdeksi parametriksi ei tee oikeutta rakenteelle. Tämä työ oli luonteeltaan seurantatutkimus, joten mahdollisimman suuren ulkoisen tarkkuuden saavuttaminen ei ollut tavoitteena.

Kirjallisuutta

- [1] Anne Imberty and Serge Perez. A revisit to the three-dimensional structure of b-type starch. *Biopolymers*, 27:1205–1221, 1988.
- [2] A. Buléon, B. Pontoire, C. Riekkel, H. Chanzy, W. Helbert, and R. Vuong. Crystalline ultrastructure of starch granules revealed by synchrotron radiation microdiffraction mapping. *Macromolecules*, 30:3952–3954, 1997.
- [3] Anne Imberty, Alain Buléon, Vinh Tran, and Serge Perez. Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch*, 43:375–384, 1991.
- [4] A. Buléon, Catherine Gérard, Christian Riekkel, Roger Vuong, and Henri Chanzy. Details of the crystalline ultrastructure of c-starch granules revealed by synchrotron microfocus mapping. *Macromolecules*, 31:6605–6610, 1998.
- [5] U. Trommsdorff and I. Tomka. Structure of amorphous starch. 2. molecular interactions with water. *Macromolecules*, 28:6138–6150, 1995.
- [6] Steven Ball, Han-Ping Guan, Martha James, Alan Myers, Peter Keeling, Gregory Mouille, Alain Buléon, Paul Colonna, and Jack Preiss. From glycogen to amylopectin: A model for the biogenesis of the plant starch granule. *Cell*, 86:349–352, 1996.
- [7] Alison M. Smith. The biosynthesis of starch granules. *Biomacromolecules*, 42:335–341, 2001.
- [8] Daniel J. Gallant, Brigitte Bouchet, and Paul M. Baldwin. Microscopy of starch: Evidence of a new level of granule organization. *Carbohydrate Polymers*, 32:177–191, 1997.
- [9] Thomas A. Waigh, Athene M. Donald, Florian Heidelberg, Christian Riekkel, and Michael J. Gidley. Analysis of the native structure of starch granules with small angle x-ray microfocus scattering. *Biopolymers*, 49:91–105, 1999.

-
- [10] P. M. Baldwin, M C. Davies, and C. D. Melia. Starch granule surface imaging using low-voltage scanning electron microscopy and atomic force microscopy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 21:102–107, 1997.
- [11] G. T. Oostergetel and E. F. van Bruggen. The crystalline domains in potato are arranged in a helical fashion. *Carbohydrate Polymers*, 21:7–12, 1993.
- [12] Thomas A. Waigh, Paul Perry, Christian Riekkel, Michael J. Gidley, and Athene M. Donald. Chiral side-chain liquid-crystalline polymeric properties of starch. *Macromolecules*, 31:7980–7984, 1998.
- [13] H. F. Zobel, S. N. Young, and L. A. Rocca. Starch gelatinization: An x-ray diffraction study. *Cereal Chem.*, 65:443–446, 1988.
- [14] U. Trommsdorff and I. Tomka. Structure of amorphous starch. 1. an atomistic model and x-ray scattering study. *Macromolecules*, 28:6128–6137, 1995.
- [15] Toru Suzuki, Akio Chiba, and Toshimasa Yano. Interpretation of small angle x-ray scattering from starch on the basis of fractals. *Carbohydrate Polymers*, 34:357–363, 1997.
- [16] John David Jackson. *Classical Electrodynamics*. John Wiley & Sons, Inc., New York, third edition, 1999.
- [17] Eugen Merzbacher. *Quantum Mechanics*. John Wiley & Sons, Inc., New York, third edition, 1998.
- [18] Harold P. Klug and Leroy E. Alexander. *X-Ray Diffraction Procedures For Polycrystalline and Amorphous Materials*. John Wiley & Sons, Inc., New York, second edition, 1974.
- [19] George B. Arfken and Hans J. Weber. *Mathematical Methods for Physicists, International Edition*. Academic Press, San Diego, fourth edition, 1995.
- [20] André Guinier and Gérard Fournet. *Small Angle Scattering of X-Rays*. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1955.
- [21] R. Hosemann and S. N. Banachi. *Direct Analysis of Diffraction by Matter*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 1962.
- [22] L. A. Geigin and D. I. Svergun. *Structure Analysis by Small-Angle X-Ray and Neutron Scattering*. Plenum Press, New York, 1987.
- [23] T. Vicsek. *Fractal Growth Phenomena*. World Scientific, 1989.

-
- [24] O. Glatter and O. Kratky. *Small Angle X-ray Scattering*. Academic Press Inc., New York, 1982.
- [25] J. E. Martin and A. J. Hurd. Scattering from fractals. *Journal of Applied Crystallography*, 20:61–78, 1987.
- [26] B. D. Cullity. *Elements of X-Ray Diffraction*. Addison-Wesley Publishing Company Inc., Reading, Massachusetts, 1956.
- [27] A. J. C. Wilson, editor. *International Tables for Crystallography*, volume C. Kluwer Academic Publishers, London, 1992.
- [28] R. Gehrke. An ultrasmall angle scattering instrument for the doris-iii bypass. *Rev. Sci. Instrum.*, 63:455–458, 1992.
- [29] R. T. Cox. Probability, frequency and reasonable expectation. *American Journal of Physics*, 14(1):1–13, 1946.
- [30] Devinder S. Sivia. *Data Analysis a Bayesian Tutorial*. Oxford University Press, Great Clarendon Street, Oxford OX2 6DP, 1996.
- [31] Glenn F. Knoll. *Radiation Detection and Measurement*. John Wiley and Sons, Inc., New York, second edition, 1989.
- [32] Jorma Rissanen. *Lectures on Statistical Modeling Theory*. Luentomoniste.
- [33] William H. Press, Saul A. Teukolsky, William T. Vetterling, and Brian P. Flannery. *Numerical Recipes in C, The Art of Scientific Computing*. Cambridge University Press, Cambridge, second edition, 1992.
- [34] Philip R. Bevington and D. Keith Robinson. *Data Reduction and Error Analysis for the Physical Sciences*. WCB/McGraw-Hill, Boston, Massachusetts, second edition, 1992.
- [35] Yoram Avni. Energy spectra of x-ray clusters of galaxies. *The Astrophysical Journal*, 210:642–646, 1976.
- [36] W. Kraus and G. Nolze. *Powder Cell 1.8*. 1995.
- [37] Robert C. Weast, editor. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. CRC Press, Cleveland, Ohio, 56th edition, 1975.
- [38] R. E. Cameron and A. M. Donald. A small-angle x-ray scattering study of the annealing and gelatinization of starch. *Polymer*, 33:2628–2635, 1992.